

Année 1936

N°

THÈSE

POUR LE

281

DOCTORAT de L'UNIVERSITÉ de PARIS

(MENTION MÉDECINE)

PAR

Zaki SFEIR

*Ancien Interne des Hôpitaux de Besançon
Diplômé de l'Institut Colonial de Paris*

Né le 9 Mai 1907, à Jérusalem (Palestine)

LE BACTERIOPHAGE ANTIPESTEUX

Président : M. L. TANON, Professeur

PARIS

MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR

289, RUE SAINT-JACQUES, 289

1936

Année 1936

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT de L'UNIVERSITÉ de PARIS

(MENTION MÉDECINE)

PAR

Zaki SFEIR

Ancien Interne des Hôpitaux de Besançon

Diplômé de l'Institut Colonial de Paris

Né le 9 Mai 1907, à Jérusalem (Palestine)

LE BACTERIOPHAGE ANTIPESTEUX

Président : M. L. TANON, Professeur

PARIS

MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR

289, RUE SAINT-JACQUES, 289

—
1936

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU
Thérapeutique	HARVIA.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
»	CARNOT.
»	CLERC.
»	Marcel LABBE.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale...	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.....	GULLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
Clinique chirurgicale	CUNEO.
»	GOSSET.
»	GRÉGOIRE.
»	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
Clinique d'accouchements	BRINDEAU.
»	COUVELAIRE.
»	JEANNIN.
Clinique gynécologique	N.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
Professeurs sans chaire	HOVELACQUE.
»	MULON.
»	OLIVIER.
»	VERNE.
»	MOCQUOT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BENARD (Henri)	Pathologie médicale.
BERNARD (Etienne) .	Pathologie médicale.
BOULIN	Pathologie médicale.
BULLIARD	Histologie.
CATHALA	Pathologie médicale.
CHEVALLIER	Pathologie médicale.
DOGNON	Physique.
FEY	Urologie.
GALLIARD	Parasitologie.
GASTINEL	Bactériologie.
DE GAUDART D'ALLAINES	Pathologie chirurgic.
GAYET	Physiologie.
GIROUD	Histologie.
HAGUENAU	Pathologie médicale.
HALPHEN	Oto-Rhino-Laryngologie
HAZARD	Pharmacologie.
HUGUENIN	Anat. pathologique.
JOANNON	Hygiène.
LABBE (Henri)	Chimie biologique.
LACOMME	Obstétrique.
LANTUEJOUL	Obstétrique.

MM.

LAROCHE (Guy)	Pathologie médicale.
LEMAIRE	Pathol. expérimentale
LEVEUF	Pathologie chirurgic.
Mlle J. LEVY	Pharmacologie.
LEVY-VALENSI	Neurol. et Psychiatrie.
MOREAU	Pathologie médicale.
MOULONGUET	Pathologie chirurgic.
MOUQUIN	Pathologie médicale.
OBERLING	Anatomie pathologiq.
PETIT-DUTAILLIS . . .	Pathologie chirurgic.
PIÉDELIEVRE	Médecine légale.
PORTES	Obstétrique.
RICHET	Physiologie.
SANNIE	Chimie biologique.
SENEQUE	Pathologie chirurgic.
TROISIER	Pathol. expérimentale
TURPIN	Pathologie médicale.
VIGNES	Obstétrique.
WILMOTH	Pathologie chirurgic.
Justin BESANÇON....	Hydrologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

ALGLAVE	Pathologie chirurgic.
BUSQUET	Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT . . .	Physiologie.

MM.

LEROUX	Anatomie pathologiq.
NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.

ABRAMI	} Clinique médicale.
ALAJOUANINE	
AUBERTIN	
BRULE	
CHABROL	
CHIRAY	
DONZELOT	
DUVOIR	
LIAN	
PASTEUR-VALLERY- RADOT	
SEZARY	

MM

BASSET	} Clinique Chirurgicale.
BROCC	
CADENAT	
GATELIER	
HEITZ-BOYER	
MOURE	
QUENU	
SCHWARTZ	} Clinique obstétricale.
VELIER	
ECALLE	
GUENIOT	
LE LORIER	
LEVY-SOLAI	}
METZGER	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.
FREY	Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA GRAND'MÈRE

A MA MÈRE ET A MON PÈRE

*Faible témoignage de mon profond amour
filial et de toute ma reconnaissance pour
leur affection, leur dévouement et leur
sacrifice.*

A MA TRÈS CHÈRE FEMME

*Qui m'est l'animatrice et la joie de tout
travail. Faible gage de mon immense et
inaltérable tendresse.*

A MES FRÈRES ET SŒURS

En gage de la sincère affection qui nous unit.

A MES BEAUX-PARENTS

Affectueux témoignage.

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MRS C. E. COLE

*En témoignage de ma profonde gratitude
et de mon infinie reconnaissance.*

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR TANON

Membre de l'Académie de Médecine
Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Paris
Professeur de Médecine Coloniale
Conseiller Technique du Ministère de la Santé Publique
Inspecteur Général des Services Techniques d'Hygiène
à la Préfecture de Police
Officier de la Légion d'Honneur

*En respectueux hommage de reconnaissance
pour le très grand honneur qu'il veut
bien nous faire en acceptant la présidence
de notre thèse.*

A MES MAITRES DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
ET DES HOPITAUX DE BESANÇON

*En reconnaissance de l'enseignement qu'ils
nous ont donné et de la grande bienveil-
lance qu'ils n'ont cessé de nous témoi-
gner.*

A MES MAITRES DE L'INSTITUT COLONIAL DE PARIS

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

A M. LE DOCTEUR R. PONS

du Corps de Santé Colonial

Ancien Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur de Saïgon

*Qui a bien voulu nous inspirer le sujet de
cette thèse, et nous aider de ses précieux
conseils.*

Témoignage de vive reconnaissance.

INTRODUCTION

Depuis la découverte du Bactériophage antipesteux par D'Hérelle en 1921, plusieurs auteurs ont communiqué les résultats de leurs recherches concernant les propriétés biologiques du Bactériophage antipesteux et son comportement *in vivo* et *in vitro*.

Les résultats thérapeutiques obtenus grâce à son emploi dans le traitement de l'infection pesteuse étaient souvent contradictoires ; parfois on a noté des succès inespérés, tandis que dans d'autres cas son emploi a abouti à un échec certain. Plusieurs hypothèses ont été émises et soutenues par différents auteurs pour expliquer le triomphe ou l'échec de la phagothérapie dans le traitement de la peste humaine.

Nous n'avons pas la prétention d'apporter dans ce modeste travail des faits nouveaux ; nous nous sommes proposés seulement de réunir à peu près tous les faits relatifs au Bactériophage antipesteux et ce qu'on doit attendre de ses applications en clinique.

Nous devons remercier tout particulièrement le Docteur R. Pons d'avoir bien voulu nous guider dans la réalisation de cet ouvrage. Qu'il veuille bien croire à notre profonde gratitude.

CHAPITRE PREMIER

LE BACTÉRIOPHAGE EN GÉNÉRAL

La lyse microbienne est un phénomène connu depuis les débuts de la science bactériologique, il apparut aux premiers observateurs comme une des manifestations de souffrance et de vieillissement des germes, ou mieux encore comme le résultat d'une destruction microbienne dans le milieu extérieur après la mort de la cellule bactérienne.

A ces phénomènes banaux, d'observation courante, vinrent s'ajouter, longtemps après, des manifestations de destruction microbienne rapide, et ayant quelquefois l'aspect de spécificité, par des substances très diverses comme par exemple, la bile pour le pneumocoque (Neufeld) la saponine pour certains spirochètes et certains acido-résistants.

La découverte de bactériolysine spontanée ou provoquée (Behring et Pfeiffer) devait apporter en même temps qu'un fait nouveau, dans le cadre de la destruction spécifique des bactéries, un ensemble d'observations de la plus grande importance dans l'étude de l'immunité.

Cependant aucune de ces observations n'avait éveillé dans l'esprit des chercheurs la notion si féconde et si conforme à nos conceptions biologiques et philosophiques de l'existence pour les bactéries de particules organisés vivantes, infiniment plus petites et capables d'engendrer pour ces espèces microbiennes des maladies ayant le caractère infectieux de contagiosité. Les bactéries rentraient ainsi dans le cadre général de nos connaissances sur l'existence pour toute espèce vivante de virus pathogènes ou saprophytes.

La découverte de Twort et surtout les travaux de D'Herelle nous ont apporté un ensemble de faits permet-

tant d'envisager l'hypothèse précédente comme parfaitement plausible.

Nous proposons, pour éviter toute confusion, de réserver au seul phénomène de Twort-D'Herelle l'appellation de *Bactériophagie* pour bien le séparer de toutes les autres bactériolyses avec lesquelles il n'a que des rapports bien lointains. La bactériophagie est un cas très particulier de la lyse microbienne envisagée comme un phénomène général.

Il est banal de signaler que si la conception parasitaire de la bactériophagie (D'Herelle) a été au point de vue de la recherche scientifique particulièrement féconde au cours des 25 dernières années, cette théorie est loin de rallier actuellement tous les suffrages. Il semble même que la conception parasitaire perd tous les jours plus de terrain, sans toutefois qu'elle ne cesse de garder de très nombreux défenseurs.

Nous ne saurions dans ce travail discuter des principes même de la bactériophagie, mais l'on nous permettra cependant de rappeler certaines observations.

De nombreuses objections faites à la théorie parasitaire de la bactériophagie ne sont souvent que des erreurs basées sur des données insuffisantes. L'erreur la plus importante d'après R. Pons est celle qui consiste à l'origine de toute recherche à vouloir faire une numération des éléments bactériophagiques, numération considérée comme mathématiquement exacte, d'après la méthode des dilutions, ou par la numération des plages. La lyse en milieu liquide ou en milieu solide est un témoignage de l'action de l'agent lytique, de même que la peste humaine est le témoignage de l'action du bacille de Yersin sur l'espèce humaine ; mais pas plus que nous ne pouvons numérer les bacilles de Yersin, dans un milieu défini par comparaison avec le nombre de cas de peste, nous ne pouvons compter les particules du bactériophage d'après le nombre des plages.

Il faudrait en effet admettre que chaque bacille de

Yersin infecte sûrement un individu et que chaque bactériophage parasite sûrement une bactérie, ce qui reviendrait à considérer tous les individus soumis à la contagion comme parfaitement et également réceptifs et les parasites comme toujours infectants.

Nos dosages du pouvoir bactériophagique ne nous permettent que d'apprécier l'ordre de grandeur relatif du nombre des éléments sensibles par rapport aux éléments infectants. En définitif, en numérant les plages, nous exprimons ce que l'on pourrait appeler *l'endémicité* ou *l'épidémicité bactériophagique* (R. Pons).

Certains adversaires de la théorie parasitaire de D'Herelle prétendent qu'étant donné le rapport relatif (1/1.000.000) des dimensions du bactériophage aux corps microbiens, toutes les bactéries d'une culture devraient être atteintes (Wollman) ; ils admettent donc pour la même raison (Rapport relatif de dimension du bacille pesteux et de l'espèce humaine) qu'en temps d'épidémie tous les individus sans exception doivent être frappés.

Il paraît encore plus problématique, au point de vue de l'argumentation, de comparer la courbe d'augmentation dans une culture du nombre des microbes d'une part, et des particules bactériophagiques, d'autre part ; car ces courbes sont fonction de variables essentiellement indépendantes.

Parmi les théories opposées à la conception de D'Herelle, signalons celle émise par Bordet qui considère la lyse transmissible comme le résultat d'une action *diastatique* par un ferment libéré par certains individus, très probablement après leur mort, et capable d'engendrer la lyse d'autres éléments. Pour Wollman, la lyse transmissible est due à l'existence d'un facteur *héréditaire* qui est à l'origine d'un phénomène de variation microbienne. Cette conception n'expliquerait pas le caractère de *contagiosité* que l'on doit reconnaître au phénomène de la *bactériophagie*.

Le caractère dominant du phénomène et qui a frappé

si fortement le biologiste, caractère sur lequel D'Herelle a remarquablement attiré l'attention, est l'état *corpusculaire* ou *particulaire* du bactériophage. Le bactériophage *se compte et ne se mesure pas* ; il conditionne par sa *quantité numérique* le nombre des plages sur milieu solide. Considérant ce caractère, les partisans de la nature diastasique du bactériophage devraient être amenés avec Duclaux à admettre la notion de *diastase vivante* ou de *ferments figurés* ce qui constituerait peut-être un chaînon de plus entre la matière morte et la matière vivante.

CHAPITRE II

LE BACTÉRIOPHAGE ANTIPESTEUX

A. — *Sa découverte par D'Herelle.* — A la séance de l'Académie des Sciences du 3 janvier 1921, D'Herelle annonçait la découverte d'un Bactériophage antipesteux, isolé dans les circonstances suivantes :

Au mois de septembre 1920, une petite épidémie de peste localisée, a été signalée dans la ville de Bac-Lieu, en Cochinchine, qui constitue d'ailleurs un foyer intermittent ; une dizaine de cas se sont produits, tous suivis de décès. Une épidémie de peste humaine n'étant que la conséquence d'une épizootie murine, D'Herelle a pensé que si la théorie de la défense de l'organisme par les Bactériophages était exacte, les rats survivants, c'est-à-dire, qui ont résisté à la contagion ou ont guéri, devaient présenter dans leurs excréments un Bactériophage actif contre le bacille de Yersin. Il a fait prélever des excréments de rats capturés en quatre endroits différents de la ville : tous les échantillons contenaient un Bactériophage actif qu'il a pu isoler et cultiver en séries.

B. — *Historique du Bactériophage antipesteux.* — A la suite de cette importante découverte, plusieurs auteurs se sont intéressés à l'étude du Bactériophage antipesteux, et un certain nombre de travaux furent publiés.

Les premiers en date furent ceux de D'Herelle et de W. Doorembos. D'Herelle faisait savoir en 1925 les résultats de ses premières tentatives de traitement de la peste par le bactériophage correspondant. Les observations présentées par lui, montraient le grand succès thérapeutique obtenu par l'emploi du Bactériophage dans le traitement de la peste bubonique.

W. Doorembos rapportait l'année suivante, c'est-à-dire

en 1926, les résultats de ses expériences sur la protection des rats contre l'infection pesteuse expérimentale au moyen d'administration préventive de Bactériophage anti-pesteux. L'injection sous-cutanée de Bactériophage anti-pesteux protégeait les rats contre des doses mortelles de Bacilles pesteux. L'administration du Bactériophage per os s'est montrée moins efficace.

A partir de 1926, les travaux sur le Bactériophage anti-pesteux semblaient marquer un temps d'arrêt. Après un silence d'environ 2 ans, les publications de A. Compton, de P.C. Flu, de P.H. Harvey, de L. Couvy, de M. Advier, de Girard et de R. Pons ont remis la question du Bactériophage à l'ordre du jour.

A. Compton faisait connaître en 1928 les résultats de ses expériences sur l'emploi du Bactériophage anti-pesteux dans la peste expérimentale. Une seule injection de Bactériophage n'exerçait aucune action, ni curative ni prophylactique, sur l'infection pesteuse expérimentale. Par contre, deux injections, pratiquées à 6 jours d'intervalle, se montrent actives au point de vue prophylactique dans 40 % des cas. Puis, dans une seconde publication faite en 1930, l'auteur faisait remarquer que ce pourcentage a pu être porté à 67 % avec 3 inoculations, et à 80 % avec les mêmes lysats additionnés de formol.

Les constatations faites par W. Doorembos et A. Compton ont été confirmées et complétées par les travaux de P. C. Flu et J. H. Pirie. Ces auteurs faisaient connaître en 1929 que l'injection d'une dose unique de Bactériophage de 0 cc. 05 ou de 0 cc. 5, une, deux ou quatre semaines avant l'inoculation virulente d'épreuve, n'a jamais permis de protéger les rats en expérience. Mais à la suite d'une série d'injections de Bactériophage, un certain nombre d'animaux résiste quand on leur inocule le bacille pesteux. A titre curatif, le Bactériophage n'assurait la guérison des animaux que dans un 1/3 de cas environ, et seulement à la condition d'être administré de façon précoce et multipliée.

A la même époque, P.C. Flu poursuivait ses expériences sur le Bactériophage antipesteux et sur son emploi dans l'infection pesteuse. Dans une première série de travaux l'auteur rapporte des essais de traitement de la peste chez le cobaye, par le Bactériophage, ainsi que des essais préventifs et curatifs dans la peste expérimentale du rat ; les premiers au moyen de l'administration de Bactériophage par voie buccale, les seconds par voie sous-cutanée.

A part ces dernières expériences où l'on pouvait constater une certaine survie des animaux traités par rapport aux témoins, l'auteur n'a eu à constater que des résultats négatifs.

Dans la seconde partie de ses travaux, le Bactériophage fut employé non plus en vue de produire la destruction des bactéries dans l'organisme, mais en tant que moyen de dissolution de celles-ci in vitro pour l'obtention d'extraits bactériens concentrés. Les lysats ainsi obtenus se sont montrés doués de propriétés immunisantes prononcées. La presque totalité (95 %) des rats ainsi traités résiste à une inoculation d'épreuve de 40 doses mortelles de bacilles pesteux et plus du 1/4 (26,3) à celle de 400 doses mortelles.

En 1930, Couvy et Popoff ont rapporté les brillants succès qu'ils ont obtenu avec le Bactériophage, dans le traitement de la peste lors de l'épidémie de Dakar de 1929. Sur 21 malades, choisis parmi les cas les plus graves, tous traités uniquement par le Bactériophage, 15 ont guéri, dont 2 septicémiques (avec bacille décelable dans le sang à l'examen direct, et hémoculture positive) et 1 pulmonaire primitif.

Cette communication présente un grand intérêt qui n'échappe pas à ceux qui connaissent les fréquents échecs de la sérothérapie dans les formes pulmonaires.

Lambert en 1930 apporte une statistique portant sur 247 pesteux traités par le Bactériophage suivant la méthode de D'Herelle, appliquée par Couvy.

Cette statistique montre que, grâce à ce traitement,

on n'a enregistré que 128 décès. Mais l'auteur fait remarquer que si on retranche de ces 247 malades, les 79 décès survenus dans les 24 premières heures de leur hospitalisation, le nombre de décès enregistrés parmi ceux traités par le Bactériophage ne sera que de 49.

A côté de ces observations, où la phagothérapie a donné de très bons résultats, d'autres furent bientôt publiés et où l'on constate l'échec de ce nouveau genre de traitement.

En 1930 Girard fait connaître les insuccès qu'il a eus en 1926 à Madagascar avec le Bactériophage préparé par l'Institut Pasteur de Paris et avec un « pestiphage » qui lui a été envoyé par D'Herelle de l'Egypte.

Le même échec de la phagothérapie fut signalé par Guillini en 1931, par R. Pons en 1932 et par Robic en 1933.

Mais une récente communication faite par M. F. Estrade, montre que, l'association bactériophage-sérum antipesteux, constitue le traitement de choix de la peste bubonique. Cette méthode, appliquée par l'auteur lui a donné 24 guérisons sur 30 cas de peste bubonique grave.

Enfin, dans une autre série de travaux, Couvy, R. Pons, M. Advier et Sugino ont étudié expérimentalement les propriétés biologiques du Bactériophage et son comportement *in vitro* et *in vivo*. Nous ne ferons que citer les titres de leurs travaux, car au cours de notre exposé, nous aurons à les étudier avec plus de détails, dans différents chapitres.

En 1930, Couvy publiait des notes sur les principes lytiques, pour le bacille de Yersin, isolés des selles des convalescents, puis en 1931 il a étudié l'utilisation thérapeutique de ce bactériophage. Enfin en 1932 et 1933, il a fait connaître ses études expérimentales sur le comportement du Bactériophage *in vivo*.

En 1932, un fait nouveau a été signalé à la séance de l'Académie des Sciences du 18 avril. Tandis que jusqu'à ce jour, la présence du Bactériophage ne fut signalée que

dans l'intestin, R. Pons et M. Adevier, l'ont isolé le premier du suc ganglionnaire, le second du sang d'une convalescente de peste, alors qu'il n'existait pas dans son intestin.

Ce bactériophage ainsi isolé, fut étudié expérimentalement par les deux auteurs.

R. Pons communique en 1932 les résultats de ses expériences sur le comportement du Bactériophage *in vivo*, chez l'homme, le cobaye et la souris. En 1933 il montra l'influence que peut avoir les injections répétées de Bactériophage spécifique dilué, sur l'évolution de l'infection pesteuse expérimentale.

M. Advier montrait en 1932 quelques caractères du principe lytique retiré du sang humain. En 1933 il confirme la spécificité étroite du Bactériophage anti-pesteux, en même temps qu'il décrit un procédé pour mesurer le pouvoir du principe lytique. La valeur de ce procédé fut contestée par R. Pons, dans une étude critique parue la même année.

Enfin, Sugino publia en 1932 un travail qui a permis de connaître quelques caractères biologiques très importants du Bactériophage anti-pesteux.

CHAPITRE III

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DU BACTÉRIOPHAGE ANTIPESTEUX

I. — NATURE DU BACTÉRIOPHAGE ANTIPESTEUX

Pendant longtemps on a discuté, et on discute encore sur la nature du Bactériophage. On a souvent parlé de diastase susceptible de se multiplier, de coferment ou de catalyseur jouissant du don métaphysique d'ubiquité, d'hérédité excrétée transmissible par mouvement communiqué. Par contre, D'Herelle s'est fait le défenseur de la théorie parasitaire et il s'est efforcé de prouver qu'on se trouve en présence d'un phénomène vital dû à un organisme vivant.

Les travaux de cet auteur ont eu le grand mérite d'avoir bien mis en évidence toutes les propriétés du Bactériophage qui le rapprochent des autres germes vivants connus : « sa résistance vis-à-vis des agents de destruction, quoique grande, est pourtant moindre que celle de bien des êtres dont la nature vivante est indiscutable et indiscutée. Circonstance particulière : il est spécialement sensible à l'action de certains antiseptiques qui n'agissent nullement sur les diastases, la quinine par exemple. Quant à la glycérine qui détruit le Bactériophage, elle est par excellence, le liquide de choix pour la conservation indéfinie des toxines et des diastases les plus fragiles. Enfin le Bactériophage se multiplie, puisque ces cultures peuvent se continuer en série. »

II. — HABITAT DU BACTÉRIOPHAGE ANTIPESTEUX

La présence d'un principe lytique actif pour le bacille de Yersin fut constatée tout d'abord dans le tube digestif

de certains rats vivant dans des milieux à endémicité pesteuse élevée. Ensuite, il fut isolé de l'organisme de certains convalescents de peste. Tout dernièrement, Girard a pu le mettre en évidence dans l'organisme de la puce. Ainsi, le Bactériophage antipesteux a pu fermer son cycle, puisqu'il a été retrouvé chez le rat, réservoir de virus pesteux, chez la puce, agent de transmission de la maladie, et enfin chez l'homme malade ou convalescent de la peste.

Les organismes vivants ne constituent pas l'unique habitat du Bactériophage antipesteux, car on a pu le retrouver dans la nature en dehors de tout organisme.

1. — *Chez le rat* : A la suite de la publication des premiers travaux de D'Hérelle sur le Bactériophage antipesteux, pendant longtemps on a cru que le principe lytique ne pouvait exister que chez des animaux vivant dans des milieux à endémicité pesteuse élevée. C'est à Bac-Lieu, où la peste est endémique, que D'Hérelle isola pour la première fois, des excréments des rats de cette localité, un Bactériophage actif pour le bacille pesteux. Girard le trouve dans le contenu intestinal et le suc ganglionnaire de deux rats de Tannanarive. Ces deux rats étaient porteurs d'adénites cervicales et inguinales suppurées (33).

Plus tard, les travaux de Hauduroy, la thèse de Ghalib et les publications de P. Lépine et de Mlle Bilfinger, ont montré que le Bactériophage antipesteux a pu être isolé chez des rats, où la peste n'est nullement endémique.

Hauduroy et Ghalib l'ont trouvé dans les déjections et dans le sang d'un rat capturé dans les égouts de Paris à la suite d'une petite épidémie de peste survenue à Paris. (39 et 40).

P. Lépine et Mlle Bilfinger trouvent, que le sérum de deux rats d'Athènes, contenait un principe lytique pour le bacille de Yersin, alors qu'il n'y a pas eu d'épidémie de peste depuis fort longtemps à Athènes. En plus, l'autopsie de 600 rats de la ville n'a montré aucune lésion permettant de conclure à une enzootie pesteuse. (44)

Chez le rat, le tube digestif constitue l'habitat le plus fréquemment observé. Néanmoins, on l'a isolé d'autres parties de l'organisme de cet animal.

Nestor Morales Villazon a constaté que la culture de la rate d'un rat du port de Buenos-Aires a donné une culture microbienne dans laquelle des plaques de la lyse très nettement limitées, ont apparu. La colonie a fini par disparaître sous leur action. L'ensemencement en bouillon de la plaque lysée, a fourni après filtration un lysat actif pour les cultures du bacille pesteux. (49)

W. Doorembos a isolé en même temps le bacille pesteux et son principe lytique du sang du cœur des souris inoculées de peste et ayant reçu soit par la voie sous-cutanée, soit par la voie intestinale, un Bactériophage spécifique. (18)

2. — *Habitat chez l'homme* : Chez l'homme comme chez le rat, le principe lytique a été retrouvé dans le contenu intestinal (D'Herelle, Couvy), le sang (M. Advier) et le suc de différents viscères (R. Pons) de certains malades traités par le Bactériophage et parfois même chez des personnes n'ayant jamais reçu le principe lytique.

A) *Bactériophage isolé chez des malades ayant reçu l'agent lytique*. R. Pons rapporte les observations de quelques pesteux traités par le Bactériophage et où le principe lytique a pu être isolé dans différents organes quelque temps après l'injection du Bactériophage (1).

Dans un cas très curieux de peste bubonique à localisation inguino-crurale d'abord gauche ensuite droite, le prélèvement dans le bubon gauche, fait 24 heures après l'injection du Bactériophage, ne donne aucune culture et permet de mettre en évidence un principe lytique ; le prélèvement dans le bubon droit a donné, par contre, une culture de peste en dehors de la présence du principe lytique.

(1) R. Pons. B.S.P. Exotique. Tome XXV, N° 5, p. 439. Observations.

Nous rapportons ci-après cette observation qui montre que si le Bactériophage diffuse rapidement dans l'organisme, il peut laisser vierge d'agent lytique certaines régions.

Observation N° 1. — Daouda N Dour, âgé de 12 ans, originaire de Yombel, est malade depuis la veille. Il se plaint de frissons, de fièvre avec céphalée et courbature. A son entrée, il est porteur d'un bubon inguino-crural à gauche, dur, douloureux. T.: 39°3.

La ponction du bubon permet d'obtenir une sérosité très riche en coccobacilles Gram négatif, l'hémoculture faite à cette date reste négative.

Le malade reçoit 2 cc. de Bactériophage.

Le 20, l'état général est satisfaisant. Le bubon est un peu moins volumineux. T.: M. 38°9 ; S. 39°3.

La ponction du bubon donne une sérosité aseptique à l'examen direct, et une culture de bacilles de Yersin au troisième jour en bouillon peptoné. Pas de principe lytique dans ce prélèvement.

Deuxième injection de 2 cc. de Bactériophage.

Le 21, état général très amélioré. T.: M. 37°5; S. 37°7., mais apparition d'un deuxième bubon à droite, la sérosité du bubon gauche est d'aspect stérile. La culture est négative et l'on peut mettre en évidence un Bactériophage très actif le 25 et le 28 mars (lyse en 4 hs).

La sérosité retirée au même moment du bubon droit renferme de rares coccobacilles Gram négatif. La culture est positive au quatrième jour en dehors de la présence d'un Bactériophage recherché le 25 et le 28 mars.

Troisième injection de Bactériophage.

Le 22 T.: M. 37°1 ; S. 37°2. Le bubon gauche se ramollit.

Le 23, T. normale. Les deux bubons sont en voie de suppuration. La sérosité purulente retirée du bubon droit d'aspect aseptique donne, ensemencée en bouillon, une culture de bacilles de Yersin au quatrième jour. Pas de Bactériophage.

Une hémoculture faite ce même jour reste stérile et ne renferme pas de Bactériophage.

Le 24, T. normale. Suppuration des deux bubons. Le pus retiré du bubon gauche, d'aspect stérile à l'examen après coloration donne une culture de bacilles de Yersin au quatrième jour. Pas de Bactériophage.

Le pus retiré du bubon gauche ensemencé ne donne aucune culture et aucun agent lytique.

Le pus retiré du bubon droit donne en bouillon une culture de bacilles de Yersin en dehors de tout agent lytique.

Le 28, le pus retiré des deux bubons est stérile après l'ensemencement et négatif au point de vue de la recherche du Bactériophage.

B) *Bactériophage isolé chez des personnes atteintes de peste et n'ayant pas reçu d'agent lytique.* Il est très intéres-

sant de noter que le principe lytique a pu être constaté spontanément, dans l'organisme de certains malades ou convalescents de peste qui n'ont jamais reçu de Bactériophage. C'est dans ces conditions que R. Pons l'isola du suc ganglionnaire et M. Advier du sang d'une convalescente de la peste. (1 et 55)

3. — *Bactériophage chez la puce*

Girard à Madagascar vient de fermer le cycle des habitats du Bactériophage antipesteux en le mettant en évidence chez *Xenopsylla Cheopis*, dans les circonstances suivantes.

A la suite de l'apparition d'une dizaine de cas de peste en Avril 1936 dans un quartier de Tananarive, après avoir mis en évidence l'agent lytique chez des rats de la localité, Girard eut l'idée d'effectuer les mêmes recherches sur des *X. Cheopis* prises sur les rats capturés. Du 1^{er} au 8 mai, il exécuta cinq expériences avec 63, 28, 17, 13 45 *X. Cheopis* qui furent broyées, mises dans un ballon de bouillon à 37°, lequel fut filtré sur bougie L3 après 24 heures. Voici les résultats de ces expériences.

Un résultat positif fut obtenu avec les 63 puces du 1^{er} essai et le Bactériophage s'est montré aussi actif que celui des rats.

Résultat négatif dans les 3 expériences suivantes. A la dernière, il semble qu'il y ait eu début de lyse, mais celle-ci disparut au 3^e passage. La recherche du Bactériophage sur les rats d'où provenaient ces puces n'a pas été faite.

Peu de temps après d'autres expériences furent faites sur des *X. Cheopis* récoltées sur des rats pris au piège dans d'autres arrondissements indemnes de peste : deux essais avec 73 et 40 *Cheopis* ; résultat négatif.

L'auteur fait remarquer également qu'à plusieurs reprises des puces infectées ont été trouvées sur des rats apparemment sains ; et qu'on peut supposer que les rats hébergeaient un phage et que les puces venaient d'un autre

rat qui avait succombé à la peste. Il n'est pas impossible qu'inversement, pour une raison identique, on trouve des puces indemnes sur des rats infectés (Girard) (33 bis).

4. — *Bactériophage dans la nature en dehors de tout organisme vivant*

Sertic isole des filtrats d'eau d'égouts de Paris un Bactériophage très actif pour le Bacille de Yersin.

Enfin rappelons que L. Monteiro (45) a trouvé un principe lytique pour le bacille pesteux sur des cultures vieilles de bacilles de Yersin.

III. — DESTIN DU BACTÉRIOPHAGE DANS L'ORGANISME

Une fois introduit dans l'organisme, le Bactériophage diffuse très rapidement jusque dans les organes les plus éloignés du lieu d'injection, il sera ensuite détruit et éliminé après un temps variable.

Pour savoir pendant combien de temps il était possible de trouver le principe lytique dans le sang du cœur d'un cobaye, ayant reçu par voie sous-cutanée le Bactériophage, R. Pons rapporte les expériences suivantes :

Dans un premier essai il retire par ponction du cœur chez un cobaye adulte, 1 cc. de sang une, 3, et 20 heures après l'injection de 2 cc de Bactériophage. Ces prélèvements sont mélangés à 10 cc de bouillon et éprouvés au point de vue stérilité, par un séjour de 48 h. à l'étuve à 37°, la recherche du principe lytique a été positive dans les trois cas (lyse en 6 heures).

Dans un deuxième essai, les ponctions du cœur ont été faites, 4, 24 et 48 heures après l'injection du Bactériophage. Seul, le prélèvement de la quatrième heure a permis d'observer un agent de la lyse transmissible.

Donc, le Bactériophage injecté à un animal sain par voie sous-cutanée et à dose élevée (2 cc.) a pu être mis en évidence dans le sang circulant pendant un temps qui n'est pas supérieur à 24 heures.

Chez l'homme le Bactériophage est éliminé plus ou moins rapidement, selon qu'on a affaire à un organisme sain ou en état d'infection pesteuse.

IV. — RÉSISTANCE DU BACTÉRIOPHAGE ANTIPESTEUX

1. *Vitalité.* — La vitalité du Bactériophage est très grande : les filtrats ou les cultures qui le contiennent sont encore actifs après plusieurs années de conservation en tubes scellés.

Si on laisse s'évaporer lentement à la température ordinaire une culture de Bactériophage, on retrouve celui-ci vivant dans les quelques gouttes de liquide sirupeux qui restent au fond du tube.

Dans les déjections conservées à la température ordinaire en tubes scellés, plusieurs mois après on retrouve le Bactériophage vivant et aussi actif qu'au début.

Il résiste très longtemps à l'état sec à condition d'être maintenu en tubes scellés.

Il se développe parfaitement bien en présence du Bacille de Yersin sur les milieux de culture habituels, liquides ou solides. Cependant, les milieux le plus généralement employés sont : le bouillon, la gelose simple ou peptonée.

Il est entretenu par des passages effectués mensuellement. Périodiquement, une goutte du bouillon lysé le mois précédent, est introduite dans un ballon neuf. Celui-ci est ensuite largementensemencé avec une culture jeune de bacilles pesteux, dont un ballon témoin reçoit la même quantité.

2. *Action des divers agents.* — Le Bactériophage est extrêmement résistant vis-à-vis de la plupart des agents de destruction — propriété qu'il partage d'ailleurs avec les autres ultra-microbes. Il est plus résistant que le bacille corespondant.

A) *Agents physiques.* — Vis-à-vis de la température le Bactériophage antipestueux présente une résistance moyenne : il est tué par une exposition d'une demie heure à une température de 68°-75°, tandis que le bacille pestueux est détruit à 60° au bout d'une heure.

B) *Agents chimiques.* — Le Bactériophage se montre très sensible vis-à-vis de l'action de certains antiseptiques, par contre, très résistant vis-à-vis de certains autres.

Il est très sensible à l'action de sels de quinine. Il est tué en 30 minutes avec une solution à 3 % de sels de quinine neutre, et en quelques heures dans une solution à 1 % (Eliava et Pozerski).

Il est aussi tué par un séjour de quelques heures dans un milieu neutre ou acide. Eliava et Pozerski ont déterminé avec précision les limites mortelles, en 24 h., des concentrations en ions H et OH libres. La zone compatible avec la vie est comprise entre Ph 2,5 et 8,54. Mais l'alcalinité des milieux la plus favorable pour le développement du Bactériophage antipestueux est comprise entre Ph 7,2 et 7,9.

Le Bactériophage antipestueux est tué par un traitement d'une heure avec une solution d'acide phénique à 1 % et de Bichlorure de Mercure à 1 pour 10.000 (Sugino).

Il est tué et précipité par l'alcool et l'acétone.

Son action bactériolytique est neutralisée par le sérum de lapin immunisé au moyen de Bactériophage. (Sugino)

V. — VIRULENCE DU BACTÉRIOPHAGE

Le comportement du Bactériophage vis-à-vis du bacille pestueux, ne s'est pas toujours montré sous les mêmes aspects et dans les mêmes conditions entre les mains de différents expérimentateurs qui se sont attachés à l'étude de cette importante question.

Ces divergences sont difficiles à expliquer, elles ont été attribuées tantôt à l'influence du milieu employé pour provoquer la lyse, tantôt aux diverses provenances du Bac-

tériophage et son adaptation à telle ou telle souche de bacille de Yersin.

C'est ainsi que Couvy obtint des résultats différents, selon qu'il employait tel ou tel milieu pour provoquer la lyse : ainsi six souches de bacilles de Yersin se montraient sensibles ou très sensibles à l'action du principe lytique, provenant directement des filtrats de selles de convalescent, lorsqu'elles étaient émulsionnées en eau physiologique ou en eau peptonée. Par contre, elles étaient parfaitement réfractaires lorsqu'elles étaient émulsionnées en bouillon.

Mais la lyse pouvait être obtenue après exaltation de la virulence du principe lytique, soit par un ou deux passages sur émulsion de bacilles pesteux en eau physiologique, soit en portant directement dans les tubes contenant les filtrats, une culture jeune de bacilles de Yersin.

Par contre, le Bactériophage employé par R. Pons s'est montré d'emblée très actif, pour tous les bacilles pesteux émulsionnés en bouillon. Cet auteur obtient la lyse même avec des traces de Bactériophage. « A l'aide d'une pipette Pasteur ordinaire, on aspire 1 cc environ d'une culture lysée. La totalité du liquide est ensuite rejetée en prenant soin de ne pas laisser remonter par capillarité une certaine quantité de liquide dans la partie effilée. La pipette ainsi débarrassée en apparence de la culture lysée, est portée dans un premier tube renfermant 10 cc d'une culture jeune (de 24 h) de bacilles pesteux en bouillon peptoné. On aspire et on refoule à 3 reprises une partie de la culture de façon à porter la même pipette débarrassée de tout liquide dans un second tube qui contient la même quantité d'une culture identique à celle du tube N° 1. Cette opération est renouvelée pour un 3°, 4° et 5° tube.

Après 24 hs à 30°, la lyse est complète dans les 4 premiers tubes. La quantité de liquide adhérent aux parois de la pipette, malgré les mouvements d'aspiration et de refoulement et le passage successif dans 4 tubes, a suffi pour déterminer la lyse.

Dans une autre série d'expériences, Couvy constate « qu'un Bactériophage qui lyse une souche de bacilles de Yersin, A en 3 heures et une souche B, en 3 h. $1/2$, subit 4 passages successifs sur la souche B ; au 4^e passage la lyse de la souche B est obtenue en 1 h. $1/4$. Ce lysat, hyperactif pour B, est reporté sur la souche A ; il faut alors 5 heures de contact pour obtenir une lyse complète de cette souche A, lyse qui sera du reste suivie d'une culture secondaire.

« Dans une autre expérience, un Bactériophage actif vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes perd totalement et définitivement, après une culture sur une souche unique, sa virulence pour les autres souches.

« D'autre part, tel Bactériophage sera d'emblée très actif pour une souche microbienne et absolument sans action vis-à-vis d'autres souches du bacille de Yersin. L'exaltation de la virulence par les souches sensibles sera facilement obtenue par des passages successifs, mais l'indifférence naturelle du phage vis-à-vis des souches primitivement insensibles, ne sera pas modifié.

« Cependant les souches résistantes à l'action d'un phage ne sont pas réfractaires à la lyse, puisque, mises en présence d'une autre variété de Bactériophage, elles sont susceptibles de lyser rapidement et sans culture secondaire.

« Dans ces expériences, le comportement spécifique du phage n'est nullement en rapport avec les caractères R ou S de la colonie microbienne soumise à son action.

« Il convient de noter que les souches microbiennes en cause, semblaient, par ailleurs, identiques, et que seule leur aptitude à la lyse en présence d'un phage déterminé, permettait de les différencier. »

Couvy fait remarquer que l'action élective des différentes souches du Bactériophage vis-à-vis de certains échantillons de bacilles pesteux, était particulièrement manifeste dans un cas de peste bubonique observé par lui. « Un pesteux bubonique est traité par un phage N° 1, actif pour deux souches microbiennes A et B. Après une amélioration passagère, il présente une rechute grave avec bubon secon-

daire. Le traitement, repris avec une variété différente, N° 2 du phage, amène une guérison rapide. Or le bacille isolé du bubon secondaire devait se montrer résistant à l'action du premier phage utilisé, alors que la souche N° 2, dont l'action thérapeutique avait été évidente, en assurait la lyse rapide *in vitro*.

Mais cette notion de valence n'est pas admise par tous les auteurs. Toutes les souches employées par Dujardin, Baumes, R. Pons, M. Advier et de nombreux chercheurs ont été lysées par le même principe lytique. Le bacille de Yersin est une des espèces les plus fixes, les plus homogènes, et qu'il n'est pas possible d'envisager, comme pour le colibacille, une spécificité individuelle.

M. Advier n'a jamais constaté d'insuccès avec les différentes souches de bacilles pesteux employées. 47 souches de bacille de Yersin toutes différentes d'origine, ont été lysées par le même Bactériophage. La vérification de la lyse a été régulièrement faite par l'auteur. A la fin de chaque expérience, il ensemait deux tubes de gélose : le premier avec l'émulsion ayant reçu le principe lytique, le second avec l'émulsion seule. Dans ces conditions aucune culture n'est apparue sur la première gélose, alors que sur la deuxième, des colonies de bacilles de Yersin se sont développées normalement. Quand il a été constaté qu'aucune culture décelable, même au microscope, ne s'y était produite, ces milieux ont été largement ensemencés avec des bacilles pesteux de diverses provenances qui n'ont pu s'y développer.

Dans un cas, le germe isolé par R. Pons d'un bubon secondaire, chez un malade traité par le Bactériophage était lysé dans les mêmes conditions que celui isolé en partant du bubon primitif. Cet auteur fait remarquer que si l'on se place dans l'hypothèse de Couvy, il faudrait admettre qu'un même individu ait été infecté par deux souches de bacille de Yersin, se comportant différemment vis-à-vis d'un agent lytique.

Mesure du pouvoir lytique. — Pour mesurer le pouvoir lytique du Bactériophage antipesteux, M. Advier s'est servi d'une série de tubes renfermant chacun 10 cc, c'est-à-dire, environ 200 gouttes de bouillon stérile ordinaire à Ph variant entre 7,2 et 7,4. Voici comment il a procédé : il introduisit dans le premier tube une goutte de culture pesteuse déjà lysée, et il reporte après brassage, une goutte du mélange ainsi préparé, dans le deuxième tube, d'où est retirée ensuite une goutte qui est remise dans le tube suivant. En poursuivant l'opération, il obtint des dilutions stériles progressivement et très rapidement croissantes du Bactériophage contenu dans la culture initiale. Il ensemence alors les tubes avec des bacilles pesteux et 24 hs plus tard il les examine. Le dernier tube resté stérile renferme la dilution maxima active du Bactériophage.

Dans cette expérience M. Advier trouve que le bouillon de cinq premiers tubes est resté absolument limpide. Le Bactériophage s'est donc montré actif jusqu'à une dilution de l'ordre de trois cent vingt milliardième.

Mais R. Pons fait remarquer que dans ces conditions M. Advier mesure le pouvoir empêchant du principe lytique, et non le pouvoir lytique dont le critère en milieu liquide est l'éclaircissement d'une émulsion microbienne en présence d'une émulsion témoin. (53).

« Le pouvoir empêchant n'est pas le pouvoir lytique ; dans un cas il y a arrêt de la reproduction microbienne tout comme si l'on faisait agir un antiseptique, le formol par exemple, dans le second cas il y a destruction ou digestion cellulaire, comme on l'obtient par l'action d'un ferment protéolytique ou d'une substance hydrolytique. Ce sont là deux phénomènes bien différents. »

La méthode générale d'Eliava reste celle qui donne le maximum de garantie pour apprécier à sa juste valeur le pouvoir lytique d'un Bactériophage.

VI. — SPÉCIFICITÉ DU BACTÉRIOPHAGE

Le Bactériophage antipesteux présente une spécificité très marquée pour le bacille de Yersin. Si toutes les souches du bacille pesteux, employées par différents auteurs, se sont montrées sensibles à l'action du Bactériophage, par contre jusqu'à maintenant aucune autre bactérie ne s'y est montrée encore sensible, exception faite du Vignal Malassez.

C'est en vain que l'on a essayé d'entraîner le Bactériophage antipesteux à lyser des germes intestinaux, particulièrement le bacille du colon.

Si dans une culture de bacille de Yersin déjà lysée par le Bactériophage, on ensemence d'autres souches pesteuses, le milieu reste clair et aucun microbe ne s'y développe.

Par contre, dans ces milieux où la culture de bacille de Yersin ne peut se produire, les autres microbes (B. d'Eberth, paratyphiques A et B, Brucella, staphylocoques, etc), se développent fort bien.

Le pouvoir lytique du Bactériophage antipesteux a paru tellement spécifique, que certains auteurs, tels que Girard, M. Advier et Sugino, ont préconisé son emploi comme moyen d'identification du bacille pesteux.

Ces auteurs utilisent des tubes de gélose préalablement imprégnés avec une émulsion microbienne lysée. Sur ces milieux, rendus ainsi réfractaires à la culture du bacille pesteux, on ensemence le germe à identifier ; celui-ci est aussi ensemencé sur des milieux de gélose ordinaire qui servent comme témoin. Si au bout d'un certain temps on constate l'apparition d'une culture sur les deux catégories de tubes, on peut conclure que le germe suspect n'est pas du bacille de Yersin. Par contre, si aucune culture ne se développe sur les tubes imprégnés du principe lytique, tandis qu'elle apparaît normalement sur la gélose simple, le germe est bien un bacille pesteux.

Il existe un moyen plus simple encore et qui donne des résultats aussi satisfaisants : Dans un tube renfermant

une culture de bacilles pesteux déjà lysée, on introduit une goutte de la culture à identifier. Au bout de quelques heures à l'étuve à 37° on lit le résultat. Ou bien le trouble, qui s'est produit à la suite de l'introduction de la culture à identifier, persiste et même s'accroît, ou bien le milieu est redevenu clair. Dans le premier cas, le germe suspect n'est pas du bacille de Yersin puisqu'il a résisté à la lyse et a pu s'y développer ; dans le second cas il s'agit bien d'un bacille de Yersin puisqu'il n'a pas résisté à l'action du Bactériophage antipesteux.

VII. — ACTION SUR LE BACILLE PESTEUX

I. IN VITRO.

L'action lytique du Bactériophage sur le bacille pesteux se manifeste différemment en milieu lytique ou solide.

A) *Sur milieu liquide.* — L'action lytique se traduit par l'éclaircissement total d'une émulsion d'une culture jeune de bacille de Yersin.

Pour préparer ces émulsions on prend une culture jeune de 24 hs. de bacilles pesteux, que l'on introduit dans un ballon renfermant soit du bouillon simple ou peptoné ou tout simplement de l'eau physiologique, à condition que tous ces milieux soient alcalinisés à un Ph voisin de 7,2 et 7,4.

Si dans un tel milieu, on introduit une quantité, même minime, de Bactériophage, le milieu s'éclaircit au bout d'un séjour de quelques heures à l'étuve à 37°.

Si on prend une goutte de cette émulsion devenue stérile et qu'on l'introduise dans une culture de bacilles pesteux, celle-ci s'éclaircit à son tour et ainsi de suite.

B) *Sur milieu solide.* — Les milieux les plus fréquemment employés sont : la gelose, simple ou peptonée.

L'ensemencement simultané de bacilles pesteux et de Bactériophage n'y fournit aucune culture. Le milieu reste

absolument net, d'aspect stérile et devient réfractaire à la culture de la peste ; toutefois si la dilution du Bactériophage est suffisante l'on observe après 48 hs la présence des plages claires circulaires dont le nombre est fonction de la concentration du Bactériophage.

Quand l'ensemencement du bacille de Yersin a précédé de quelques heures l'introduction du principe lytique on n'obtient, dans les conditions où l'expérience a été faite, qu'une culture en nappe, d'aspect vitreux, non repiquable.

En pratique, pour provoquer l'apparition des plages, on prélève avec une pipette quelques gouttes de cultures en bouillon de bacilles pesteux. On laisse d'abord s'écouler quelques gouttes de ces cultures dans un premier tube de gélose déjà imprégné de Bactériophage antipesteux, en ayant soin de ne toucher avec la pipette ni les parois du tube, ni la gélose, ni l'eau de condensation. On ensemence ensuite un second tube de gélose neuf. Il est probable que des gouttelettes invisibles du principe lytique ont été projetées sur la pipette au cours de l'ensemencement du premier tube de gélose et ces gouttelettes transportées sur la pipette, ont été suffisante pour déterminer dans le second tube l'apparition de zones claires, régulièrement arrondies, de dimensions variables, tendant par la suite à confluer et à envahir toute la culture.

Lorsqu'on fait agir un Bactériophage extrêmement dilué, sur une culture en gélose de bacilles pesteux, on peut obtenir sur un même tube, une zone avec des colonies sèches et une zone avec des colonies grasses. Cette modification morphologique des cultures du bacille pesteux, correspond à une modification de l'action pathogène : les colonies grasses se montrent moins virulentes que les colonies sèches. (Legroux et R. Pons). Pour Legroux, le phénomène de l'ectolyse donne naissance soit à des cultures rugueuses, soit à des cultures grasses ; ces cultures se comportent différemment au triple point de vue agglutination, action pathogène et biochimique. Fletcher pour le paratyphique B, Doorembos pour le vibron cholérique, ont

mis en évidence des faits identiques. Rappelons que Yersin lui-même avait décrit la diversité d'aspect des colonies dans des cultures âgées, certaines ayant perdu leur pouvoir pathogène, alors que d'autres étaient encore très infectantes.

2. IN VIVO.

A) *Bactériophage chez les animaux*

L'étude expérimentale faite in vivo chez des animaux de laboratoire sains et expérimentalement infectés a permis de faire les constatations suivantes :

« Le Bactériophage a une action préventive évidente qui ne résulte pas de l'agent lytique lui-même mais du lysat microbien qui agit comme vaccin.

« Le Bactériophage injecté dans un but thérapeutique loin de guérir les souris infectées, les sensibilise.

« Le Bactériophage administré par les différentes voies, diffuse rapidement dans tout l'organisme où il sera détruit dans un temps variable suivant qu'on a affaire à un organisme sain ou en état d'infection pesteuse. »

a) *Action préventive du Bactériophage.* — Doorembos montra le premier que l'injection sous-cutanée du Bactériophage antipesteux protège les rats contre les doses mortelles de bacilles pesteux. Les travaux de Campton et de Flu ont montré que l'action préventive n'est pas due au Bactériophage lui-même, mais au lysat microbien qu'il renferme.

b) *Action curatrice.* — Doorembos, Compton et R. Pons ont montré que l'injection du Bactériophage dans un but thérapeutique, loin de guérir les animaux infectés, les sensibilise.

R. Pons se sert de la souris grise comme sujet d'expérience. Cet animal est très sensible au virus pesteux, puisque 20 germes d'une souche virulente fraîchement isolés tuent 80 % des animaux en moins de 8 jours. Six de ces souris sont simultanément et en des points différents inoculés avec une dose inframortelle de bacille pesteux alors

que 18 autres souris témoins reçoivent uniquement la même dose infectante.

Au bout d'un certain temps les deux lots de souris furent examinés, et on a constaté que :

I. — les souris infectées et ayant reçu le Bactériophage ne manifestent aucune résistance, soit par une survie sur les témoins, soit par un pourcentage de mortalité moins élevé.

II. — L'examen des souris mortes montre :

1° Pour toutes les souris témoins, une infection typique avec une forte septicémie ainsi que des lésions caractéristiques de l'infection pesteuse expérimentale aiguë et suraiguë.

2° Pour les souris infectées et ayant reçu le Bactériophage, on note à l'autopsie :

a) *Souris mortes en moins de 12 heures* : pas de lésions ; pas de coccobacilles, à l'examen direct et à la culture dans le sang et dans les organes. Présence du Bactériophage dans le sang du cœur (lyse en 6 hs.).

b) *Souris mortes au 5^e jour* : rate grosse granitée (coccobacille non rares). Foie gras, jaune (coccobacille peu nombreux). Dans le sang très rares coccobacilles, hémoculture positive après 36 heures (Pas de Bactériophage).

c) *Souris mortes du 5^e au 8^e jour* : rate grosse (coccobacilles nombreux). Sang du cœur, hémoculture positive après 36 heures. Pas de Bactériophage.

d) *Souris mortes du 8^e au 13^e jour* : rate blanche. Très nombreux coccobacilles. Sang du cœur : hémoculture positive en 36 hs. Pas de Bactériophage.

e) *Souris sacrifiées le 15^e jour* : N° 1, rate très hypertrophiée, farcie d'abcès. Coccobacilles nombreux ; N° 2, rate très hypertrophiée, pas de coccobacilles. Pas de Bactériophage.

f) *Souris témoins* : autopsiées, elles présentaient dans la proportion de deux sur trois une rate grosse et, une fois sur trois, des coccobacilles dans les frottis de cet organe.

En résumé, cette expérience montre nettement que le Bactériophage antipesteux administré dans les conditions les meilleures, c'est-à-dire en même temps que l'inoculation du virus pesteux, ne renforce pas la résistance de la souris à l'infection.

Pour les souris mortes dans les premières 24 heures, il a été possible de mettre en évidence le principe lytique en dehors du bacille pesteux.

La lésion la plus caractéristique observée à l'autopsie des souris, a été la dégénérescence grasse et jaune du foie.

Cette même dégénérescence grasseuse du foie s'est manifestée avec plus de netteté chez les animaux infectés et soumis à l'action répétée d'un Bactériophage antipesteux dilué. R. Pons l'a observée et l'a décrite avec détails en étudiant l'influence des injections répétées d'un Bactériophage spécifique dilué, sur l'évolution de l'infection pesteuse expérimentale du cobaye.

L'auteur était frappé à l'autopsie de ces animaux par les modifications anatomo-pathologiques du foie de ces animaux. Celui-ci était très augmenté de volume, de couleur chamois et sa densité se trouvait fortement abaissée ; l'organe surnageait lorsqu'on l'immergeait dans l'eau. L'examen histologique a montré les lésions caractéristiques de la dégénérescence granulo-graisseuse du foie, et l'absence complète de foyers septiques et de germes microbiens.

En présence de ces constatations, l'on était en droit de conclure que cette dégénérescence granulo-graisseuse était la conséquence d'une intoxication endogène, ayant l'infection pesteuse comme cause étiologique, et le principe lytique comme cause pathogénique.

B) *Bactériophage antipesteux chez l'homme*

Les réactions consécutives à l'introduction du Bactériophage varient selon qu'on a affaire à un organisme sain ou atteint d'infection pesteuse.

a) *Chez l'homme sain*, l'administration du Bactériophage n'est suivie d'aucune réaction appréciable. Même son introduction par voie intra-veineuse ne provoque que très rarement un phénomène de choc, qui, lorsqu'il survient, se montre toujours léger et d'une durée de quelques heures à peine.

D'Herelle étudia sur lui-même les effets d'une injection sous-cutanée de Bactériophage antipesteux. Après s'être assuré de l'innocuité du Bactériophage par une inoculation au cobaye, D'Herelle s'en était injecté 1 cc. sous la peau du bras. Il n'a noté aucune réaction générale appréciable. Quant à la réaction locale, elle se réduisait à un léger œdème un peu douloureux à la pression, qui a persisté pendant 48 heures environ.

b) *Chez un pesteux*, l'administration du Bactériophage, soit par voie sous-cutanée, intraveineuse ou même intraviscérale, a toujours une action rapide sur les phénomènes généraux et locaux, même dans les cas où la maladie aurait une évolution défavorable.

Généralement quelques heures après l'injection du Bactériophage, on note une cessation du délire et des hallucinations, l'état anxieux fait vite place au calme et le malade accuse le plus souvent une sensation de bien-être.

La température peut marquer une chute brusque ou en lysis. Cette chute peut être définitive ou bien, après une rémission temporaire de quelques jours, elle remonte soit brusquement soit progressivement pour atteindre et dépasser parfois même la température initiale.

Chez certains malades, cette réélévation de la température n'est pas suivie d'une accélération correspondante du pouls. La discordance entre le pouls et la température s'observe le plus souvent chez les grands septicémiques pesteux (R. Pons). L'élévation de la température d'une part et le ralentissement du pouls d'autre part, peuvent être attribués à la résorption des toxines mises en liberté par la lyse microbienne déterminée par le Bactériophage. Ceci s'explique facilement lorsqu'on pense que dans certaines

septicémies, cette lyse peut être de l'ordre de 100 milliards de germes.

Dans la peste bubonique, l'injection de Bactériophage est suivie habituellement d'une sédation de la douleur, la périadénite s'amende et disparaît en peu de jours, et souvent l'empâtement ganglionnaire se résorbe intégralement. Si le bubon évolue vers la suppuration, la cicatrisation s'obtient en 4 à 8 jours, après évacuation du pus par incision (Couvly).

Dans certains cas, on observe l'apparition d'un bubon secondaire. Ce bubon survient parfois alors que la défervescence semblait complète et définitive. Il s'accompagne parfois d'élévation de la température avec reprise de tous les symptômes généraux.

Le frottis du sang ou du suc ganglionnaire montre une diminution considérable du nombre de bacilles. Dans un cas, l'examen direct d'un frottis de sang recueilli par piqûre de la pulpe du doigt, montrait une septicémie de l'ordre de 20 millions de germes par cc. Mais l'examen fait 1 h. 30 après l'administration du Bactériophage par voie sous-cutanée, montre une diminution notable du nombre de germes (1).

L'action lytique du Bactériophage sur le bacille pesteux ne se traduit pas seulement au lieu de l'injection, mais aussi, loin d'elle dans différentes parties de l'organisme. Dans quelques observations, le Bactériophage fut retrouvé dans le bubon, le sang circulant, le poumon et le foie de certains malades qui l'ont reçu par injection sous-cutanée (R. Pons).

Dans quelques cas, l'examen du sang ou des sucs provenant de divers viscères met en évidence un stade de pré-lyse. Celui-ci se manifeste par un gonflement des corps microbiens qui prennent l'aspect sphérique et fixent à un degré moindre les colorants. Ces formes microbiennes ne donnent pas de culture et n'infectent pas le cobaye.

(1) R. Pons. B.S.P. Exotique. TomeXXV, N° 5, p.439, obs. N°8.

CHAPITRE IV

LE BACTÉRIOPHAGE ANTIPESTEUX EN THÉRAPEUTIQUE

I. — ACTION CURATRICE. — Les premières tentatives de traitement de la peste par le Bactériophage furent faites, sur la demande de D'Herelle, par Galinier à Phantiet, où la peste est endémique. Le Bactériophage employé dans ces essais était préparé à partir de celui qui fut isolé en Cochinchine des excréments des rats de Bac-Lieu.

Les résultats de ces premières tentatives étaient très encourageants. Seulement on ne pouvait les attribuer uniquement à l'action du Bactériophage, Galinier employant celui-ci conjointement avec le sérum antipesteux.

En 1925, D'Herelle, qui se rendait à Alexandrie, eut une nouvelle occasion de se rendre compte de l'efficacité du Bactériophage dans le traitement de la peste. Trois cas de peste se produisirent à bord d'un navire dans le port d'Alexandrie ; les malades furent transportés à l'hôpital du Lazaret quarantenaire. Quelques jours plus tard, un autre cas fut débarqué d'un second vapeur. (42)

Dans ces quatre cas, le seul mode de traitement était constitué par l'injection de Bactériophage pratiquée de la manière suivante : 10 cc. de culture de *B. pestis* en bouillon, de 24 h. (Ph-7,6 étuve-32°) sont additionnés de 3 cc. de bouillon frais puis inoculés avec 0,02 cc. d'une culture antérieure de Bactériophage présentant une virulence très grande pour le bacille pesteux. Après 24 heures d'étuve à 37°, la bactériophagie étant totale, le liquide limpide est filtré et inoculé aux malades quelques heures après.

Les résultats obtenus furent très encourageants. Dans trois cas la culture de Bactériophage a été injectée dans les 24 heures suivant l'apparition du bubon. Quelques heures après l'injection, l'état général s'est brusquement amé-

lioré. Dans le quatrième cas, l'intervention a eu lieu seulement le troisième jour, l'amélioration s'était produite quelques heures après la seconde injection.

L'injection du Bactériophage, malgré l'état très grave des quatre malades, n'a donné lieu à aucune réaction d'ordre général ou local. Bien au contraire, 16 heures après l'injection, le bubon était beaucoup moins douloureux, la température tombait et l'état général s'améliorait.

Malheureusement, les tentatives faites dans la suite par un certain nombre d'auteurs, n'ont pas toujours donné des résultats aussi concluants. L'action du Bactériophage sur l'évolution de l'infection pesteuse s'est montrée variable suivant les expérimentateurs. L'emploi des produits paraissant doués au laboratoire d'un pouvoir lytique manifeste a conduit tantôt à des succès remarquables, tantôt à des échecs.

Ces divergences sont difficiles à expliquer ; elles ont été attribuées soit à l'atténuation et même à la disparition progressive du pouvoir lytique (Girard), soit à la virulence plus ou moins grande des différentes souches suivant leur provenance (Couvry), soit enfin à l'action toxique non du Bactériophage lui-même, mais des toxines libérées sous son influence, dans les organismes infectés (R. Pons).

Ainsi, le Bactériophage qui donna d'aussi brillants résultats entre les mains de D'Herelle, a donné des résultats variables lorsqu'il fut employé quelques temps plus tard par Girard, Guilliny et Fonquerni à Tananarive dans les circonstances suivantes :

« A la suite du décès d'un praticien indigène qui succombait, en 1926, à une atteinte de peste pulmonaire primitive, contractée dans un village situé à une vingtaine de kilomètres de Tananarive, auprès d'indigènes morts de la même affection, l'enquête menée par Girard et Pie montrait que dans l'entourage de la victime, sa femme et une infirmière, Rakatam, étaient particulièrement en danger, car elles n'avaient pas quitté son chevet. En effet, le quatrième jour de l'isolement, elles sont prises simultanément

des premiers symptômes qui, en pareille circonstance, sont la signature de la peste pulmonaire : fièvre élevée, dyspnée, point de côté, rachialgie. L'une d'elles aurait craché un peu de sang, mais ceci n'était pas absolument démontré. Sans plus attendre, le médecin de poste injecte en plein parenchyme pulmonaire et de chaque côté 2 cc. de pestiphage (envoyé par D'Herelle d'Alexandrie, aux fins d'expérimentation) aux deux malades. On les voit le lendemain et l'on constate les mêmes symptômes un peu atténués par rapport à ceux de la veille, mais aucune ne crache et il n'y a pas de germes suspects dans la salive. Les températures sont de 40° et 38°5. On pratique une injection de Bactériophage (préparé par Girard à partir de celui qui était envoyé par D'Herelle) de 1 cc. 1/2, toujours intrapulmonaire et bilatérale.

« Les jours suivants, les nouvelles sont des meilleures, la température est tombée à 36°6 et 36°5, les deux femmes n'accusent qu'un peu de lassitude.

« Tout danger semblait écarté lorsqu'après 4 jours d'un état satisfaisant — soit 11 jours après le début de l'isolement — Rakatam succombait en 24 heures à une atteinte typique de pneumonie pesteuse accompagné cette fois d'expectoration riche en bacilles pesteux. Une injection de Bactériophage pratiquée in extremis restait sans effet.

La femme du médecin demeurait seule définitivement indemne.

Quand Rakatam s'alita, un domestique pris parmi les isolés du foyer, le nommé Rakotolahy, fut proposé à sa garde. La malade, éminemment dangereuse puisqu'elle crachait, dut être maintenue de force sur sa couche par le domestique, parce que délirante et agitée, elle voulait à tout moment sortir de sa chambre.

Contaminé à son tour, comme il fallait s'y attendre, Rakotolahy tombe malade le lendemain de la mort de Rakatam, le 13 juin. Il est vu par le médecin indigène du poste le 14 et reçoit 1 cc. de pestiphage dans chaque pou-

mon. Le 17, son état est des plus graves : dyspnée, forte fièvre, râles fins dans toute l'étendue des poumons ; mais là encore il n'y a pas d'expectoration. On injecte 4 cc. de Bactériophage dans le poumon droit qui semble le plus touché. L'injection fut suivie de guérison. Il faut faire remarquer que la recherche des hématozoaires était négative dans le sang, et que dans la sérosité pulmonaire, étalée sur lame, on a nettement trouvé, en nombre limité, des coccobacilles ayant l'aspect du bacille pesteux.

Devant ces résultats, les essais ont été poursuivis à l'occasion de l'épidémie de peste pulmonaire observée dans le district de Soavinandriana.

Du 25 juin au 5 juillet, Guilliny traite 9 pesteux au Lazaret, donc dans les meilleures conditions de rapide intervention. Mortalité, 100 % ; dans tous les cas, l'évolution de la maladie et les constatations bactériologiques avant ou après la mort ne diffèrent pas des autres cas observés habituellement à Tananarive. Guilliny utilisa par voie intraveineuse et intrapulmonaire aussi bien le pestiphage (D'Herelle) que le Bactériophage local. Les malades avaient tous reçu au préalable 10 cc. de sérum à titre préventif.

A Antsirabe, Monnier injecte 2 cc. de Bactériophage dans les veines, à un de ses infirmiers qui venait de contracter une pneumonie pesteuse au cours de son service. Résultat nul : mort en 48 heures au Lazaret de Tananarive. A la même époque, Mury, à Majunga, expérimente sur des pesteux buboniques mais la phagothérapie ne lui donne que des guérisons apparentes sans lendemain ; il a observé après la défervescence, des morts brusques dans tous les cas.

5 tentatives effectuées par Fonqueny, dont 4 cas de peste pulmonaire et un de peste bubonique, n'ont pas été couronnées de succès. Le Bactériophage employé provenait de l'Institut Pasteur de Tananarive et fut administré par os ou par les voies sous-cutanée et intraveineuse.

Girard attribue les échecs observés surtout à la fin,

à une perte progressive de la virulence du Bactériophage par suite de son vieillissement.

Les rechutes mortelles surviennent brusquement alors que les signes généraux et locaux se sont amendés et qu'on s'attend à voir le malade guérir, elles seraient dues à l'action d'un Bactériophage d'un pouvoir lytique insuffisant. Il se passe in vivo les mêmes phénomènes que l'on observe in vitro avec un Bactériophage d'activité insuffisante, sous forme d'une culture secondaire très résistante à la lyse. Mais nous avons déjà vu que le Bactériophage maintenu dans des conditions favorables garde presque indéfiniment sa virulence.

Girard fait remarquer que l'injection du Bactériophage entraîne la production dans l'organisme d'anticorps, et que si des germes sont restés vivants, ceux-ci vont se développer avec une virulence d'autant plus grande qu'ils sont mis à l'abri de la destruction par ces « anti-bactériophages ».

Ceci confirme ce que D'Herelle écrivait : « Il est inutile de dire que le Bactériophage inoculé doit être de virulence très grande ; appliquer un Bactériophage de virulence faible, moyenne ou même assez forte serait courir sûrement à un échec. »

Ainsi, il paraît comme certain que le traitement de la peste par le Bactériophage doit être rigoureusement subordonné à l'emploi d'un produit de très haute virulence.

Ceci explique peut-être les brillants résultats obtenus en 1929 par Couvy et Popoff à Dakar, en employant un Bactériophage isolé des selles de convalescents et préparé sur place.

Ce Bactériophage s'est montré, d'emblée ou après passage sur différentes souches de bacilles pesteux, doué d'une très haute virulence tant in vitro qu'in vivo.

Les résultats thérapeutiques obtenus grâce à son emploi étaient des plus encourageants. 21 malades, tous choisis parmi les plus gravement atteints, furent traités par ce Bactériophage. Ils ont donné 15 guérisons, alors que 124

malades traités par le sérum, au cours de la même période, n'ont accusé qu'un pourcentage de succès beaucoup plus faible et avec une mortalité de 65,33 %.

Sur les 21 guérisons après la phagothérapie, on notait 18 pesteux buboniques, 2 septicémiques avec bacilles décelables à l'examen direct et culture ; en outre il y avait un pesteux pulmonaire primitif.

Voici quelques-unes de leurs observations :

OBSERVATION N° 1

A. S..., homme, 40 ans.

Le 6 juin, entre à l'hôpital. Malade depuis 4 jours. Deux bubons cruraux. T.: 41°. Agitation, délire, hallucination.

Les 6 et 7 juin, reçoit 80 cc. de sérum en inoculation intraveineuse.

Le 8. L'état général s'aggrave, l'agitation est telle qu'il est impossible de renouveler l'injection intraveineuse de sérum et même de prendre la température. Langue rôtie, ictère. Inoculation sous-cutanée de 5 cc. de Bactériophage.

Le 9 juin. Le malade est calme. Température rectale est à 38°2 le matin; état général très amélioré, langue humide. Le soir, T.: 39°9.

Le 11 juin. L'amélioration de l'état général se précise; température: 39°2 et 39°4.

Les jours suivants, l'amélioration s'accroît rapidement, l'ictère s'atténue; les bubons cessent d'être douloureux, la périadénite disparaît, les ganglions bien limités sont fluctuants, sous une peau saine. La ponction en ramène un pus très liquide sans bacilles (essai de culture).

Convalescence normale après une légère réaction sérique le 15 et le 16 juin.

OBSERVATION N° 2

K..., homme, 23 ans.

Le 22 juillet, entre à l'hôpital dans la soirée. Début depuis 24 h., état général médiocre; hébétude sans violence, T.: 41°.

Le 23 juillet. L'examen direct d'une lame de sang montre une quantité considérable de bacilles de Yersin. Ces constatations seront confirmées par une culture.

Bactériophage 4 cc. intraveineux et 5 cc. sous-cutané.

Le 24 juillet. T.: 38°2 le matin remonte à 40°4 dans l'après-midi; même traitement que la veille.

Le 25 juillet. T.: 38° le matin; 40°2 le soir, pas de traitement.

Le 26 juillet. T.: 39°9 le matin, mauvais état général; injection intraveineuse de 3 cc. de Bactériophage à 8 h. Chute de la température à 38°, à 11 heures.

Le 27 juillet. I.: 40°3 le matin; même température après-midi; injection de 3 cc. de Bactériophage à 15 heures.

Le 28 juillet, la nuit était calme; T.: 37°3.

Le malade entre en convalescence et quitte l'hôpital le 6 août, guéri.

OBSERVATION N° 3

O. M. B..., homme de 30 ans.

Le 7 juillet, entre à l'hôpital dans la soirée; état général très mauvais. T.: 40°, malade très infecté, tachycardie. Pouls filiforme; point de côté à droite, congestion pulmonaire; température oscille autour de 40° pendant les journées des 8 et 9 juillet.

Le 10 juillet, délire, aggravation nette. Pas de traitement dans l'attente de la confirmation du diagnostic.

Le 11 juillet, T.: 38°7; Bactériophage intraveineux 6 cc. Le soir, la température est à 38°; état général s'améliore; délire disparaît, malade calme.

Le 12 juillet, Bactériophage, 1 cc. intraveineux.

Le malade entre en convalescence et sort guéri le 24 juillet.

Cependant même entre les mains de ces auteurs, les résultats n'ont pas été toujours aussi satisfaisants. Pour expliquer ces échecs, Couvy fait remarquer que le Bactériophage qu'on isole n'est actif d'emblée, que pour certaines souches, et que de plus, il varie dans son action selon les milieux sur lesquels il est cultivé. Il arrive, par exemple que, cultivé sur une souche déterminée, un Bactériophage d'abord polyvalent ne conserve de virulence, après quelques passages, que pour la souche sur laquelle on le cultive et pour laquelle son activité s'exalte; des souches insensibles pour l'action d'un Bactériophage peuvent par contre être sensibles à la lyse par d'autres. L'auteur fait remarquer aussi que le caractère R ou S des diverses souches ne paraît pas pouvoir être mis en cause, pas plus qu'aucun autre caractère jusqu'ici connu. Par conséquent, pour l'auteur, l'action thérapeutique des Bactériophages est fonction de leur spécificité in vitro. Il y a donc lieu dans la thérapeutique, si les souches microbiennes ne peuvent pas être préalablement identifiées, d'essayer le traitement par des filtrats polyvalents.

Mais ces explications de Couvy ne semblent pas devoir être invoquées pour justifier l'échec de la phagothé-

rapie dans les cas traités par J. Robic. Celui-ci employa le Bactériophage de Couvy envoyé à l'Institut Pasteur de Tananarive. Les essais préliminaires montrent qu'il provoque la lyse totale en eau peptonée, comme en bouillon, de toutes les souches de peste disponibles. Son activité est sensiblement la même pour toutes.

Dans toutes les tentatives de traitement, le Bactériophage employé était réentraîné, récemment préparé et polyvalent. Il fut utilisé pour sa préparation 4 souches : une de peste pulmonaire, 2 de peste bubonique et une de peste murine.

Malgré toutes les qualités de ce Bactériophage, les essais qui ont été faits simultanément à Antsirabe et à Tananarive, n'ont donné aucun résultat, comme le montrent les 2 observations suivantes, prises comme exemple.

OBSERVATION N° 4

Enfant de 6 ans, présentait un bubon dans l'aîne. T.: 39°; frottis du bubon riche en bacilles.

Le 4 Octobre, injection de 2 cc. de Bactériophage dans le bubon et 2 cc. par voie intraveineuse.

Le 5 Octobre. Aucun changement; le bubon reste aussi gros; même traitement.

Le 6 Octobre. Aggravation et mort dans la nuit du 6 au 7.

OBSERVATION N° 5

Elle concerne un tirailleur du camp de Betonguolo, dont la femme est décédée de peste pulmonaire. Il entre comme contact au Lazaret le 8 septembre. Le 11, apparition de premiers signes suspects: fièvre de 39°5 et foyer de pneumonie gauche. Il reçoit aussitôt en plein foyer pulmonaire 2 cc. de Bactériophage et une même quantité par voie intraveineuse.

Le soir, les crachats sont sanglants et présentent des Bacilles de Yersin en état de pureté.

Le 12 Septembre, nouvelle injection intraveineuse de 2 cc. de Bactériophage. Les crachats gardent le même caractère; décès dans la journée.

L'ensemencement des crachats et leur inoculation au cobaye, ainsi que l'inoculation de fragments de poumons ont donné des résultats positifs.

Les frottis du poumon et du foie ont été riches en Bacilles pesteux.

Après l'analyse des précédentes observations, J. Robic fait remarquer que :

Dans la peste pulmonaire, lorsque le Bactériophage est inoculé après l'apparition de premiers symptômes, l'action du Bactériophage est nulle quel que soit le mode de l'inoculation. L'évolution de la maladie ne s'en trouve pas modifiée. Non seulement les sujets traités par le Bactériophage ne sont pas protégés, mais les crachats aussi bien que les frottis d'organes après la mort se sont montrés riches en bacilles pesteux.

L'observation n° 5 est très démonstrative. Après l'injection du Bactériophage, les crachats ont été recueillis plusieurs fois. Ils ont toujours présenté de nombreux bacilles de Yersin. Ces bacilles étaient virulents car à chaque reprise ils tuaient l'animal.

Deux fois il a été injecté pendant la période d'incubation avant l'apparition d'aucun symptôme suspect. Résultat nul (1).

Autres constatations importantes et qui sont en désaccord avec celles de Couvy. Chez chacun des pesteux traités, on a isolé une souche de peste, soit directement par l'ensemencement des crachats, soit par passage sur le cobaye d'un fragment de poumon. Or, toutes les souches pesteuses isolées ainsi ont été au laboratoire, parfaitement lysées par le Bactériophage employé pour le traitement.

On ne peut pas dire qu'il s'agit d'échantillons de bacilles pesteux échappant à l'action spécifique du Bactériophage employé, comme le faisaient prévoir les travaux de Couvy.

On a noté trois insuccès nettement caractéristiques dans le traitement de la peste bubonique.

Quant aux guérisons observées, J. Robic fait remarquer que dans une observation, il s'agit d'un travailleur embrigadé dans un chantier, lequel était strictement surveillé en raison de la présence de plusieurs cas de peste bubonique. Le malade était dépisté tout au début, isolé

et traité ; il s'agissait très probablement ici d'un cas de peste bénigne qui évolue presque toujours vers la guérison.

Il en est de même dans un deuxième cas, où le dépistage précoce, car il s'agissait d'un enfant de médecin, et l'emploi du sérum en même temps que le Bactériophage, ont eu une heureuse influence sur l'évolution de la maladie. D'autre part, le bacille isolé chez cet enfant, par ensemencement du suc ganglionnaire, s'est montré d'emblée peu virulent. Il tue le cobaye en 11 jours au lieu des délais habituels qui sont compris entre 5 et 7 jours.

Enfin, des constatations faites, d'une part par Gilly et d'autre part par Estrade, il semble bien que le traitement actuel de choix de la peste bubonique soit constitué par l'association Bactériophage et sérum.

Gilly obtient à Dakar 8 guérisons sur 10 cas de peste bubonique en associant ces deux traitements (36). Il administrait le Bactériophage par voie sous-cutanée et en même temps il injectait 50 cc. de sérum antipesteux sous la peau et une même quantité dans les veines. Les jours suivants, le sérum est utilisé seul à la même dose, et ceci jusqu'à la guérison.

Des résultats identiques furent obtenus par Estrade (20) qui employait une technique comparable à celle de Gilly.

Dès l'admission d'un pesteux bubonique au Lazaret de Mananjara, il recevait une ampoule de Bactériophage dans le bubon, suivie de 40 cc. de sérum antipesteux le matin en injection intraveineuse et 40 cc. de ce même sérum le soir par la même voie. Dans les cas graves on va même jusqu'à 120 cc. de sérum intraveineux. Le lendemain, deuxième injection de Bactériophage dans le bubon à la même dose que la veille. Le sérum est employé comme précédemment de 40 à 120 cc. intraveineux suivant les circonstances. Les jours suivants et jusqu'à la guérison — sérum intraveineux à des doses variant entre 20 et 80 cc. Le Bactériophage est définitivement arrêté dès la seconde injection.

Deux souches de Bactériophage furent employées sans qu'on puisse noter des différences d'action ou de réaction sur les malades par l'emploi de l'une ou de l'autre : l'une est originaire de Dakar, isolée par Couvy et a subi d'assez nombreux passages depuis de nombreuses années ; la seconde par contre venait d'être isolée par Girard sur des rats de Tananarive et n'avait subi que deux passages in vitro avant la préparation du stock livré pour le traitement.

Parallèlement aux essais faits au Lazaret de Mananjara, d'autres essais furent faits au Lazaret d'Ambohitrolomahitsy et d'Antsirabe. Dans un cas, les malades reçurent conjointement au Bactériophage du sérum antipesteux, dans les autres cas les malades recevaient soit du Bactériophage soit du sérum seulement. Voici les résultats de ces essais :

	DÉCÈS	GUÉRISONS	TOTAL	% DE GUÉRIS
<i>Lazaret d'Ambohitrolomahitsy :</i>				
Sérum seul intraveineux	5	5	10	50
<i>Lazaret de Mananjara :</i>				
Bact. sérum intraveineux	6	3	9	33
<i>Lazaret de Mananjara :</i>				
Bact. ds bubon, sér. intraveineux	3	16	19	84
<i>Lazaret d'Antsirabe :</i>				
Bact. ds bubon, sér. intraveineux	3	8	11	72

Ce tableau montre nettement l'énorme avantage de l'association du Bactériophage au sérum dans le traitement de la peste bubonique.

24 heures après la deuxième injection de Bactériophage, un prélèvement de sérosité fait dans le bubon reste stérile à l'ensemencement. Ce fait très important a été signalé par presque tous les auteurs qui ont étudié l'action du Bactériophage sur le bacille pesteux in vivo soit chez l'homme, soit chez les différents animaux de laboratoires employés.

*
* *

II. — ACTION PRÉVENTIVE. — Si le pouvoir curatif du Bactériophage a pu être mis en doute dans la peste, son action spécifique ne saurait cependant être tenue pour ab-

solument négligeable, puisque les expérimentateurs sont tous d'accord pour lui reconnaître une action protectrice réelle contre l'infection pesteuse.

Doorembos constate en Egypte qu'une injection sous-cutanée de Bactériophage est capable de protéger le rat contre des doses mortelles de bacilles pesteux. L'inoculation simultanée de bacilles de Yersin et de Bactériophage se traduit par une forme atténuée de la maladie suivie de guérison dans 81 % des cas chez mus *Norvegicus* et 46 % chez mus *Ratus*.

Flu et Compton ont démontré que cette action protectrice n'est pas due au Bactériophage lui-même qui s'élimine rapidement de l'organisme, mais à l'antigène mis en liberté sous son influence. L'action immunisante du Bactériophage serait à rapprocher de celle obtenue par la vaccination soit par les agressines naturelles de Bail, soit par les extraits aqueux d'agressines préparés par Wasserman et Citron.

En effet, il y a des microbes nommés « parasites combles » (Vollparasiten) de Bail, contre lesquels une immunisation par les corps microbiens est presque impossible. Mais dans l'organisme des animaux infectés, on trouve dans les exsudats, à côté des microbes, des produits nommés agressines qui sont formés par les déchets microbiens libérés au cours de la réaction de défense de l'organisme. Grâce à la présence des agressines, ces exsudats sont doués d'un pouvoir immunisant assez marqué vis-à-vis des germes correspondants.

Ainsi, les agressines contenues dans les exsudats des lapins infectés par les microbes de sortie au cours de la peste porcine, peuvent protéger les lapins contre des doses correspondant à cent, mille et même un million de fois la dose mortelle.

Wasserman et Citron ont pu démontrer que l'activité protectrice de tels vaccins était due à la présence des matières dissoutes dans les corps microbiens. En agitant de jeunes cultures sur gélose de bacilles de peste porcine dans

de l'eau phéniquée à 5 %, on obtient, après centrifugation rapide et un chauffage à 44° pendant 3 heures, un vaccin que les auteurs précédents ont nommé : « extraits aqueux d'agressines », et qui était aussi actif que ceux préparés par Bail avec les agressines naturelles.

En partant de ces faits, Flu a préparé à Batavia des agressines aqueuses contre les bacilles pesteux. Il a traité avec ses vaccins 38 cobayes, 4 rats, 10 lapins, 20 singes, 30 rats blancs, avec un taux d'immunisation respectivement de 63, 6, 28, 100, 85 et 100 %.

Ces résultats sont très supérieurs à ceux obtenus à l'aide d'autres préparations. Mais ces vaccins présentent quelques graves inconvénients. Ils sont d'une fabrication très difficile et leurs injections sont suivies parfois de réactions locales importantes et parfois de la mort d'un certain nombre d'animaux en cours de vaccination.

C'est pour obvier à ces inconvénients que l'auteur eut l'idée d'employer le Bactériophage comme moyen de préparation de ces extraits. Tous les inconvénients observés avec les extraits aqueux ont disparu, et mieux encore, ce nouveau procédé a permis d'obtenir des vaccins très riches en extraits microbiens et par conséquent bien plus actifs. Il est actuellement démontré que le pouvoir immunisant de ces lysats microbiens dépend bien plus de la teneur en corps microbiens désintégrés que de leur teneur en Bactériophage.

La concentration, plus ou moins grande, des vaccins employés par les différents auteurs explique peut-être la divergence notée par ces expérimentateurs.

Compton emploie un Bactériophage d'une virulence moyenne qui a été ajouté à un mélange de une partie de culture de bouillon de bacilles pesteux, âgés de 24 heures et de 2 parties de bouillon stérile. Ce mélange a été mis pendant 24 à 36 heures à 37° et ensuite filtré sur terre d'infusoires et Chamberland L5. Le vaccin est gardé pendant 23 jours avant d'être employé.

Un certain nombre de souris reçurent 0,25. à 0,5 cc.

de Bactériophage et d'autres du vaccin pesteux ordinaire. 14 jours après la dernière injection de Bactériophage, ils ont été éprouvés. Pour contrôler l'immunité acquise, les animaux ont été injectés avec 0,2 cc. d'une culture en bouillon de bacilles pesteux âgés de 24 heures, mélangé à parties égales avec du bouillon stérile. Cette quantité contient plusieurs doses léthales de bacilles pesteux.

Une seule injection de Bactériophage donne une protection partielle qui se manifeste par la prolongation de la vie des animaux traités. Avec deux injections successives de Bactériophage, 40 % des souris eurent une immunité absolue ; tandis que le vaccin pesteux ordinaire appliqué de la même façon ne donne aucune protection.

Compton a pu améliorer les résultats en faisant 3 injections au lieu de 2. Dans ces conditions, la proportion dans laquelle les animaux paraissent immunisés est de 67 % au lieu de 40 %. Ce pourcentage a pu être porté à 80 lorsqu'on employait une préparation de Bactériophage dans lequel les corpuscules avaient été tués par le formol, ce qui sauvegardait (par analogie avec la méthode de Ramon pour la préparation de l'anatoxine) son contenu en endotoxine et en protéine bactérienne dissoute.

Harvey Pirie, a repris l'étude du pouvoir préventif du Bactériophage antipesteux sur une suspension renfermant 250 millions de Bacilles pesteux par cc. de bouillon. Il utilise le rat comme animal d'épreuve.

L'auteur n'a constaté aucun degré d'immunité chez les animaux inoculés avec une seule dose de 0 cc. 05 à 0 cc. 50 du Bactéroiphage et infectés de peste une, deux et quatre semaines **plus tard**.

Une immunité plus forte a été constatée chez des rats qui recevaient deux doses successives de 0 cc. 5 de Bactériophage, elle était encore plus forte chez ceux qui recevaient 5 ou 6 injections. H. Pirie a employé des vaccins si pauvres en produits microbiens qu'un très grand nombre d'injections étaient nécessaires pour donner une **bonne immunité**.

Naidu et Juing ont effectué plusieurs recherches comparatives sur différents vaccins pesteux. Ils ont préparé leur Bactériophage avec un petit nombre de bacilles pesteux par cc. de bouillon et inoculé les animaux supposés immunisés avec 0 mgr. 003 de suc de rate d'un animal mort de peste. Environ 94 % des animaux ainsi infectés succombèrent dans les 15 jours après l'infection.

Dans trois essais, 90 rats ont été immunisés avec 0 cc. 5 de Bactériophage ou avec 0 cc. 5 de vaccin Haffkine. 3,3% des premiers, 1,1% des seconds succombèrent.

87 animaux survivants après l'injection de Bactériophage et 89 survivants après l'injection de vaccin de Haffkine ont été infectés. Après 15 jours, 74 des animaux injectés de Bactériophage et 15 des animaux ayant reçu le vaccin de Haffkine moururent.

15 % ont été immunisés par le Bactériophage et 36 % par le vaccin de Haffkine.

Mais ici, on peut faire la même remarque ; les vaccins employés n'étaient pas suffisamment riches en corps microbiens dissous et par conséquent n'avaient que très peu d'action immunisante.

Par contre, la richesse des vaccins employés par Flu explique le succès qu'il a obtenu ; ces vaccins contenaient environ de 1.300.000 à 5.000.000 de bacilles par cc.

A côté de la concentration des vaccins en corps microbiens, un autre facteur intervient pour augmenter le pouvoir immunisant des lysats microbiens ; c'est l'emploi pour la préparation de ces vaccins de souches virulentes. L'immunisation est d'autant plus grande que les bacilles pesteux employés sont plus virulents.

Les essais d'immunisation avec des bacilles pesteux avirulents sont exceptionnels. C'est ainsi que la culture de Ma de Koll et Otto était avirulente pour les cobayes mais encore possédait des propriétés immunisantes. 78 % des cobayes injectés et 45 % des rats étaient protégés contre l'inoculation d'une dose mortelle de bacilles pesteux.

Flu emploie pour ses expériences 3 vaccins de concentration différente en bacille pesteux (21 et 26).

Vaccin A.	—	1.200.000	de bacilles	par cc.	bouillon.
B.	—	2.400.000	»	»	»
C.	—	4.800.000	»	»	»

On additionnait les bacilles de 2 cc. de Bactériophage antipesteux très actif par 100 cc. de suspension. Après un séjour de 24 heures à 37° le lysat était filtré stérilement.

Après avoir été agité avec un excès de chloroforme, le mélange était mis pendant 12 heures à 37°. On déverse le superflu de chloroforme et le liquide est additionné d'une quantité d'acide phénique nécessaire pour obtenir une solution de phénol à 0,5 %.

Après 5 jours à la température ordinaire, on éprouve la stérilité et l'inocuité pour l'animal.

Pour déterminer leur pouvoir toxique, Flu fait les expériences suivantes.

Vaccin A.

Rat 1	avec 3 cc.	—	3.600.000.000	de bacilles.
» 2	» 6 cc.	—	7.200.000.000	»
» 3	» 10 cc.	—	12.000.000.000	»

Vaccin B.

Rat 1	avec 3 cc.	—	7.200.000.000	de bacilles.
» 2	» 6 cc.	—	14.000.000.000	»
» 3	» 10 cc.	—	24.000.000.000	»

Vaccin C.

Rat 1	avec 3 cc.	—	14.000.000.000	de bacilles.
» 2	» 6 cc.	—	28.000.000.000	»
» 3	» 10 cc.	—	48.000.000.000	»

Tous les animaux montrèrent des signes d'agitation quelques minutes après l'injection. Ceux injectés avec 6 ou 10 cc. de vaccin C ont manifesté en outre de légères secousses généralisées telles qu'on en observe après l'injection de grandes quantités de bouillon ou d'eau peptonée.

Le rat 2 (vaccin A) mourut 2 jours après l'injection. A l'endroit de l'injection, infiltration et un peu d'œdème.

Ni l'examen microscopique ni la culture ne montrèrent de bacilles pesteux.

Le rat 1 (vaccin C) mourut 3 jours après l'injection. Rien localement.

Le rat 3 (vaccin C) eut des convulsions cloniques 15 minutes après l'injection et mourut au bout d'une heure. Légère irritation au niveau de la piqûre.

Le vaccin n'est donc pas spécialement toxique.

Pour étudier l'action protectrice de ces vaccins, Flu injecte aux animaux 0 cc. 25, 0 cc. 50 et 0 cc. 75 de vaccin à 5 jours d'intervalle. Trois mois plus tard l'immunité des animaux était éprouvée par l'injection sous-cutanée de 1/100 d'anse de bacilles pesteux virulents. Voici les résultats obtenus :

	NOMBRE D'ANI- MAUX	0.25, 0.50, 0.75 A 5 JOURS	DURÉE ENTRE L'INFECTION			
		D'INTER- VALLE	DOSE LÉTHALE	ET LA	MORTS	VIVANTS
			1.000	10.000	MORT	
Vaccin A	20	20	20		4-8	8
	20	20		20	2-7	12
Vaccin B	22	22	22		3-8	7
	10	10		10	3-5	4
Vaccin C	20	20	20		5	3
	10	10		10	4-9	3
Contrôle	10		10		4-6	10
	10			10	3-5	10

Les expériences suivantes de Flu, démontrent d'une façon évidente que l'immunisation doit être attribuée aux microbes et que le Bactériophage ne sert que de moyen de solution, tout en enlevant au vaccin sa tendance à provoquer des inflammations. Les animaux ont été immunisés de la même manière avec une suspension de microbes mais sans bactériophage. La suspension contenait 5 milliards de bacilles pesteux par cc. et était maintenue à 37° comme la suspension additionnée de Bactériophage.

	NOMBRE	0.25, 0.50, 0.75, 5 JOURS	1/100 DOSES LÉTHA-	TEMPS	MORTS	VANTS
	DE RATS	LES				
Avec Bactériophage.	18	18	18	5-7	2	16
Sans Bactériophage..	18	18	18	5-7	3	15
Contrôle	20		20	1-5	20	0

En plus, on a noté que la réaction locale ne se produisait pas avec un vaccin Bactériophage, tandis que les animaux réagissaient vigoureusement à l'endroit de la piqure, après injection de la suspension. Il y eut de grands infiltrats douloureux et parfois même de la nécrose.

Lorsque les vaccins préparés avec le Bactériophage étaient maintenus pendant 4 mois à la T. ordinaire, les résultats obtenus étaient encore supérieurs à ceux déjà signalés.

Sur 54 rats immunisés par 3 doses successives de 0 cc. 25, 0 cc. 50 et 0 cc. 75 faites à un intervalle de 5 jours, 44 (soit 91 %) pouvaient supporter une infection par bacille pesteux correspondant à dix mille fois la dose mortelle.

Une seule dose de vaccin donne une protection bien moins forte : Sur 18 animaux ainsi immunisés, 12 (soit 66 %) sont restés en vie après l'infection par dix mille doses mortelles.

Mais l'intervention vaccinnante de l'antigène microbien ne semble pas pouvoir être invoquée dans les expériences de Morales Villazon. Cet expérimentateur soumet des rats à une double inoculation ; ces animaux reçoivent du pestiphage dans une cuisse et du bacille de Yersin dans la cuisse opposée ; dans ces conditions, le cobaye résiste à plusieurs doses mortelles de bacilles pesteux.

Conclusion. — Il résulte de notre exposé que les résultats obtenus par l'application thérapeutique du Bactériophage au cours de l'infection pesteuse n'ont pas toujours été satisfaisants, au contraire son utilisation dans la préparation des lysats-vaccins a permis de constater, expérimentalement surtout, une efficacité incontestable.

CONCLUSIONS

L'observation de la lyse rapide, en quelques heures, d'une culture hypervirulente de peste, entraînant une véritable stérilisation spécifique du milieu par des traces de BACTÉRIOPHAGE, agissant à la manière d'un catalyseur, devait faire naître dans l'esprit de nombreux chercheurs les plus grands espoirs quant à son utilisation en thérapeutique. Ainsi s'expliquent l'abondance des travaux et la persévérance des chercheurs.

Certains faits sont venus confirmer ces espoirs, en particulier :

1° La mise en évidence du phénomène de la lyse in vivo.

2° La diffusibilité extrême du bactériophage dans l'organisme infecté.

3° La survivance du bactériophage dans les humeurs pendant un temps nettement supérieur à celui nécessaire à la lyse in vitro.

4° Certains résultats observés en thérapeutique humaine.

D'autres faits, plus nombreux nous invitent cependant à une extrême réserve au cours de l'utilisation du bactériophage antipesteux en thérapeutique humaine. Parmi les plus importants, nous citerons :

1° L'existence d'une toxémie grave, résultant de la libération des nucléo-protéines (endo-toxines), consécutive à la lyse microbienne.

2° L'apparition très rapide d'un anti-bactériophage.

3° L'apparition in vivo au cours de la phagothérapie de races de bacilles de Yersin résistants au bactériophage.

4° La présence dans l'organisme infecté de zones inaccessibles au bactériophage (bubons secondaires).

Tel est à ce jour l'état de la question faisant l'objet de ce modeste travail.

Vu : *Le Doyen*,
G. ROUSSY.

Vu : *Le Président*,
L. TANON.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Université de Paris,
S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADVIER (M.). — C.R.A.Sciences 1932, CXIV, 1897-1899. Existence d'un principe lysant le Bacille de Yersin dans le sang d'une convalescente de peste.
2. — C.R.S. de Biologie, 1932 CIX 161-163. Caractères d'un principe lysant le Bacille pesteux retiré du sang humain.
3. — B.S.P. Exotique 1933 XXVI, 94-99. Etude d'un Bactériophage antipesteux.
4. — B.O.I. d'Hygiène Publique 1933 XXV. 498. Procédé d'identification du Bacille de Yersin par l'emploi de tubes de culture préalablement ensemencés avec le Bactériophage antipesteux.
Bureau d'Orient de la Section d'Hygiène de la S. D. N.
- 5 et 6. — B.S.P. Exotique 1930 XXIII. 936. L'application du Bactériophage au traitement de la peste humaine.
7. COMPTON (A.). — J. I. Disease 1928, XLIII. 448. Sensitization and immunization with Bacteriophage in experimental plague.
8. — P. of. South-African Institute for Medical Research, 1929. IV. 195-205.
9. — J.I. Disease 1930, XLVI. 152. Immunization in experimental plague by subcutaneous inoculation with Bacteriophage.
Comparison of plain and formaldehyde-treated plague by lysed plague vaccine.
10. — A.I. Pasteur, 1930, XLV, 754. Étude sur l'immunité dans la peste expérimentale.
11. COUVY (L.). — B.S.P. Exotique 1930, XXIII. 943. Note sur un principe lytique pour le Bacille de Yersin, isolé de selles de convalescents de peste.
12. — Marseille Médical. 1931 XXXI. 5 Novembre. Le Bactériophage du Bacille de Yersin et son utilisation thérapeutique.
13. — C.R.S. de Biologie, 1932, CIX, 1344. Sur le Bactériophage du Bacille de Yersin.
14. — La Médecine. 1932 Décembre. 909. Le Bactériophage antipesteux, son utilisation thérapeutique.
15. — C.R.S. de Biologie. 1932 CIX 1344, 1932 CX 38. Sur le Bactériophage du Bacille de Yersin, son comportement *in vivo*.
16. COUVY (L.) et POROFF. — B.S.P. Exotique 1930 XXIII 618. Essai de traitement de la peste par le Bactériophage.

17. COUVY (L.) LAMBERT (L.) et DUFOUR (V.). — A.I. Pasteur 1932 XLVIII 541. Le principe lytique transmissible dit « *Bactériophage* » du Bacille de Yersin.
18. DOOREMBOIS (W.). — N.T. V. Hyg. Microb. et Serol. 1926 I 278. Epidémiologie de la Peste en Egypte.
19. — N.T. V. Hyg. Microb. et Serol. 1929 II 5472-5482. Flu's test immunization against plague and my own experiences with plague and plague Bacteriophage.
20. ESTRADE (M.F.). — B.S.P. Exotique 1934 XXVII. 609. Contribution à l'étude de l'action du Bactériophage dans le traitement de la peste bubonique.
21. FLU (P.C.). — C.R.S. de Biologie 1929 C. 837. — M.B.G. et Med. Col. Gen. Lab. Weitevreden. 3^e Série 1919, p. 133-175. Proeven der immuniseung Legen Pest.
22. — N.T. v. Geneesk. 1929 (a) 2102. 1929 (b) 4010-4020.
23. — G.T.v.Ned.Indic. 1929 LXIX 1060-1072. 1932 LXXIII 1045-1058.
24. — J. Tropical Med. & Hyg. 1929 353-356.
25. — B.Z. Arch. f. s. Trop. Hyg. 1929 XXXIII. 223-232.
26. — B.S.P. Exotique 1933 XXVI. 796. Immunisation des rats blancs contre la peste exp. au moyen de B. pesteux virulents lysés par le Bactériophage en suspension concentrée.
27. — Z. f. Bakh. 1929 CXIII 468-473. 473-480. Bactériophage anti-pesteux, son emploi dans la prophylaxie et le traitement de la peste expérimentale.
28. — G.T.v. Nedell Indic. 1929 LXIX 958-966. Le Bactériophage anti-pesteux dans la prophylaxie de la peste expérimentale.
29. FONQUERNIE (J.). — B.S.P. Exotique 1932 XXV. 677. Essai de Traitement de la peste par le Bactériophage.
30. GIRARD (G.). — B.S.P. Exotique. 1930 XXIII 936. Considération sur le traitement de la peste par le Bactériophage.
31. — B.O.I. d'Hygiène Publique. 1932 XXIV. 1297. Rapports sur le fonctionnement technique de l'I. Pasteur de Tananarive pendant l'année 1931.
32. — B.S.P. Exotique 1934 XXVII 415.
33. — C.R.S. de Biologie 1934 CXV 1219. Présence d'un principe lytique très actif vis-à-vis du B. de Yersin isolé chez des rats de Tananarive.
- 33 bis. — C.R.S. de B. 1935 CXVII 333. Présence d'un principe lytique très actif vis-à-vis du B. de Yersin chez la puce (*X.Cheopsis*) capturés sur des rats de Tananarive.
34. GIRARD (G.) et ROBIE (J.). — B.O.I. d'Hygiène Publique 1934 XXVI 2152. Recherche sur la peste à Madagascar.
35. GUILLINY. — Marseille Médical 1921 25 Nov. 641-653. Essai de traitement de la peste par le Bactériophage.

36. GILLY. — B.S.P. Exotique 1934. Activité du Service d'Hygiène de la circonscription de Dakar pendant l'hivernage 1933.
37. HAWEY (W.F.). — Tropical Disease Bul. 1933 XXX 331 c. 411. Bactériophage with special reference to plague and cholera.
38. — S. Afri. Inst. for Med. Res. 1929 IV 191-230. Bactériophage in the prophylaxie and treatment of experimental plague.
39. HAUDUROY et GHALIBE. — C.R.S. de Biologie 1929 C. 1089. Présence du Bactériophage antipesteux à Paris.
40. GHALIBE. — Thèse 1931. T. XXI Paris. Bactériophage antipesteux chez des rats d'égouts de Paris.
41. D'HERELLE (F.). — C.R.A. de Sciences 1921. CLXXII 99. Le microbe Bactériophage agent d'immunité dans la peste et le Barbonne.
42. — Presse Médicale 1925 XLIV 1933. Essai de traitement de la peste par le Bactériophage.
43. LAMBERT. — B.S.P. Exotique. 1932. XXV. 672. La peste à l'Hôpital Central Indigène.
44. LEPINE (P) et Mlle BILFINGER (F.). — C.R.S. de Biologie 1934 CXV 131. Existence dans le sérum des rats d'Athènes d'un principe lytique pour le B. pesteux.
45. MONTEIRO (L.). — Braz.Med. 1922, 10 juin et 5 août 297-301, 72-74. Sobre o phenomeno de D'Herelle. Presenca do principio lytico. nasculturas en meio solido do bacillo anthracis B.pestis. B.Shiga Kruse.
46. NAIDU (B.P.) et AVARI. — Ind.Jour. for M. Research. 1932 XIX 737. Bacteriophage in the treatment of plague.
47. NAIDU et JUNG. — P. of South Afri. Insti. for. M. Res. 1929 IV 195-205. Recherches comparatives sur différents vaccins antipesteux.
48. NESTOR. MORALES VILLAZON. — C.R. S.Biologie 1923 LXXXIV 89. Bactériophage efficace contre le B. pesteux.
49. — Rev. Asso. Med. Arg. Buenos-Aires 1923 XXXVI. Estudio de un Bacteriophago eficaz para el Bacilo de la peste.
50. GOKROVSKAYA (M.P.). — G. i. epidem. 1929 VIII 31-34. Bacteriophage dans le corps de la marmotte.
51. PONS (R.). — C.R.S. Biologie 1932 CX 184. Le Bactériophage anti-pesteux *in vivo*.
52. — B.S.P. Exotique. 1932. XXV. 437. Le Bactériophage antipesteux *in vivo* chez l'homme, chez le cobaye et chez la souris.
53. — B.S.P. Exotique. 1933 XXVI 385. Au sujet de la communication de M. Advier « Etude d'un Bactériophage antipesteux ».
54. — C.R.S. de Biologie. 1933 CXIV 1066. Influence des injections

répétées de Bactériophage spécifique dilué, sur l'évolution de l'infection pesteuse expérimentale.

55. PONS (R.) et DURIEUX. — C.R.A. de Sciences 1932 CXCIV 1399. Existence dans le bubon d'un pesteux convalescent d'un agent de la lyse transmissible, en dehors de sa présence dans l'intestin.
56. PREISZ (H.V.). — C.f.Bakh. I. 1926 CI 65. Zwei eigernartige varianten de pest Bazillus.
57. ROBIC (J.). — B.S.P. Exotique. 1933 XXVI 756. Traitement de la peste par le Bactériophage.
58. SUGINO (T.). — Kihazato. Arch. of Exp. M. 1932. 72. The Bacteriophage against the plague Bacillus.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	9
CHAPITRE PREMIER. — <i>Le Bactériophage en général</i>	11
CHAPITRE II. — <i>Le Bactériophage antipesteux</i>	15
A. — Sa découverte par d'Hérelle	15
B. — Historique du B. antipesteux	15
CHAPITRE III. — <i>Propriétés biologiques du B. antipesteux</i>	20
I. Nature du B. antipesteux	20
II. Habitat du B. antipesteux	20
1. Chez le rat	21
2. Chez l'homme	22
A) Malades ayant reçu l'agent lytique	22
B) Personnes atteintes de peste et n'ayant pas reçu l'agent lytique	23
3. Chez la puce	24
4. Dans la nature en dehors des organismes vivants	25
III. Destinée du Bactériophage dans l'organisme	25
VI. Résistance du B. antipesteux	26
1. Vitalité	26
2. Action des divers agents	26
A) Agents physiques	27
B). Agents chimiques	27
V. Virulence du Bactériophage	27
Mesure du pouvoir lytique	31
VI. Spécificité du Bactériophage antipesteux	32
VII. Son action sur le B. pesteux	33

1. <i>In vitro.</i>	
A) Sur milieu liquide	33
B) Sur milieu solide	33
2. <i>In vivo.</i>	
A) <i>Chez les animaux</i>	35
a) Action préventive	35
b) Action curatrice	35
B) <i>Chez l'homme</i>	37
a) Chez l'homme sain	38
b) Chez les pesteux	38
CHAPITRE IV. — <i>Le Bactériophage dans le traitement de la peste</i>	40
I. Action curatrice	40
II. Action préventive	50
CHAPITRE V. — <i>Conclusion</i>	58
BIBLIOGRAPHIE	59